

**BASES CONCEPTUALES DEL MECANISMO DE INTERACCIÓN PLANTA-
PATÓGENO (PATOSISTEMA CACAO-MONILIA)**

DARWIN HERNANDO MARTÍNEZ BOTELLO

CÓDIGO: 88.268.495

CAMILO FORERO VARGAS

DIRECTOR

**UNIVERSIDAD NACIONAL ABIERTA Y A DISTANCIA
ESCUELA DE CIENCIAS AGRÍCOLAS, PECUARIAS Y DEL MEDIO
AMBIENTE**

PROGRAMA DE BIOTECNOLOGÍA AGRARIA

BUCARAMANGA 1 DE ABRIL DE 2015

RESUMEN

Continuamente las plantas están expuestas a un sin número de patógenos potenciales, lo cual ha generado procesos de coevolución que han resultado en el desarrollo de diferentes mecanismos de defensa en plantas algunos de ellos constitutivos o pasivos y otros inducibles (Mysore y Ryu, 2004; Dodds and Rath Jen, 2010). Así de manera global, en las respuestas intracelulares de defensa vegetal frente a patógenos se han descrito cuatro eventos. El primero, la percepción de una señal del patógeno por parte de la planta. El segundo, la traducción intracelular en la planta de la señal de reconocimiento. Tercero, la síntesis de moléculas de defensa por parte de la planta y cuarto, el transporte de las moléculas a sitios estratégicos que eviten la colonización del patógeno (Benhamou, 2004), (Benhamou, 1996); las bases moleculares de estas interacciones son complejas, sin embargo en los últimos años se han comprendido gran parte de ellas (Ausbel, 2005). En Cacao (*Theobroma cacao* L), se ha avanzado realmente poco en la determinación de este tipo de respuestas e interacciones, al respecto, esta propuesta buscó comprender las bases conceptuales del mecanismo de interacción Planta-Patógeno, así como entender las diferentes vías de señalización involucradas y los tipos de genes implicados en la activación de los mecanismos de resistencia a enfermedades ocasionadas por organismos Biótrofos y Necrótrofos, describiendo los principales mecanismos utilizados durante la infección de un patógeno a la célula vegetal. En ese sentido, la información fue relacionada en forma sintética partiendo de antecedentes actuales disponibles del patosistema Cacao-Monilia, y mencionando la falta de claridad en las bases bioquímicas del patosistema. No obstante se espera con la reciente secuenciación del genoma de *Theobroma cacao* L, se pueda avanzar más en descifrar las diferentes señales que intervienen en este tipo de interacciones, fundamentado en modelos de reconocimiento y activación de cascadas de señalización que terminan en la generación de respuestas intracelulares de defensa; algunas mediadas por el reconocimiento de moléculas y otras por moléculas elicitoras de señales. Las bases moleculares que rodean el patosistema Cacao-Monilia y que incluso son motivo de estudio, así como, los conocimientos que producen patosistemas como *Arabidopsis thaliana* y *Peronospora parasítica* o *Pseudomonas syringae* pv. pisi, pueden generar alternativas para la comprensión y entendimiento, más aún cuando el patosistema podría fundamentarse en conocimientos a un futuro generados a partir de la

secuenciación del genoma del Cacao (Argout *et al.*, 2012) y el genoma mitocondrial de *M. royeri* (Costa *et al.*, 2012), abriendo una puerta en la búsqueda, identificación y caracterización de posibles proteínas involucradas en los eventos de interacción planta-patógeno. Lo anterior, permitirá generar el desarrollo de alternativas nuevas y novedosas dentro del manejo integrado de la Moniliasis, ofreciendo un control efectivo bajo el fortalecimiento del sistema defensivo en plantas resistentes de Cacao *M. royeri*.

PALABRAS CLAVES

Theobroma cacao, Resistencia, *Moniliophthora royeri*, Patosistema Cacao-Monilia, Respuesta de defensa en plantas (SIR-SAR), Genes de resistencia, Interacción.

ABSTRACT

Continually plants are exposed to a number of potential pathogens, coevolution can result in the development of defense mechanisms in plants some constituent or liabilities and other inducible (Mysore and Ryu, 2004; Dodds and Rath Jen, 2010). So globally, intracellular responses in plant defense against pathogens described four events. First, the perception of a signal of the pathogen by the plant. The second translation intracellular plant recognition signal. Third, the synthesis of defense molecules from the ground and fourth, the transport of molecules to strategic locations to prevent colonization of pathogens (Benhamou, 1996); the molecular basis of these interactions are complex, however in recent years have included many of them (Ausubel, 2005), in Cocoa, has actually made little progress in determining such responses and interactions in this regard this proposal seek to understand the conceptual basis of the mechanism of plant-pathogen interaction, and understanding the different signaling pathways involved and the types of genes involved in the activation of resistance mechanisms caused by biotrophic and necrotrophic diseases, describing the main mechanisms during infection of a pathogen into the plant cell. In this sense, the information was related synthetically with current available information pathosystem Cacao, comprising the lack of clarity in the biochemical basis of the pathosystem, however is expected with the recent sequencing of the genome of *Theobroma cacao* L, we can advance more on deciphering the different signals involved in such interactions, based on models of recognition and activation of signaling cascades that end in the generation of intracellular defense responses; some mediated recognition molecules and other molecules by elicitoras signals. Molecular bases surrounding the pathosystem Cocoa-Monilia and are even being studied, however, knowledge producing pathosystems as *Arabidopsis thaliana* and *Peronospora parasitica* or *Pseudomonas syringae* pv. pisi can generate alternatives for comprehension and understanding, especially when this pathosystem knowledge may inform a future generated from genome sequencing Cocoa (Argout *et al.*, 2012) and the mitochondrial genome of *M. roreri* (Costa *et al.*, 2012), opening a door in the search, identification and characterization of putative proteins involved in the events of plant-pathogen interaction. Information in every way to generate the development of new and innovative alternatives within the integrated management Moniliasis offering effective control on use of PTI-ETI in resistant plants Cocoa *M. roreri*

1. Tabla de contenido

1.	GENERALIDADES DEL CULTIVO DE CACAO	6
1.1	Clasificación taxonómica.....	6
1.2	Descripción morfológica de la planta de Cacao.....	6
1.3	Tipos de Cacao	7
1.4	Fenología del Cacao.....	9
1.5	Distribución agroecológica del cacao	10
1.6	Importancia del cultivo del Cacao.....	11
1.7	La Moniliasis del Cacao, taxonomía y ciclo de vida.....	12
1.8	Síntomas y signos del agente causal.....	14
1.9	Manejo Químico	16
1.10	Manejo Biológico	17
1.11	Manejo cultural.....	20
2.	CAPITULO DOS. MECANISMOS DE INTERACCIÓN PLANTA-PATÓGENO.....	21
2.1	Manejo genético del Cacao.....	21
2.2	Preinfección e infección de <i>Moniliophthora roreri</i>	26
2.3	Bioquímica de los patógenos	27
2.4	Enzimas, toxinas y polisacáridos en <i>Moniliophthora roreri</i>	28
2.5	Mecanismos de defensa en plantas	29
2.6	Defensas constitutivas	32
2.7	Resistencia sistémica Inducida	32
2.8	Resistencia sistémica adquirida	33
2.9	Especies reactivas de oxígeno ROS.....	34
2.10	Resistencia No-hospedero	35
2.11	Genes involucrados en la activación de los mecanismos de resistencia a enfermedades ocasionadas por Biótrofos y Necrótrofos en Cacao (<i>Theobroma cacao</i> L).	39
2.12	Genes R.....	40
	Genes efectores o Avr	41
2.13	Modelos de interacción.....	42
2.14	Señalización durante las respuestas de defensa en plantas de Cacao (<i>Theobroma cacao</i> L).....	44
2.15	Vías de señalización en Cacao (<i>Theobroma cacao</i> L)	44

2.16	Eventos de señalización durante la inmunidad en el patosistema Cacao (<i>Theobroma cacao</i> L).....	45
2.17	Susceptibilidad encendida por efectores en el patosistema Cacao (<i>Theobroma cacao</i> L).....	47
2.18	Silenciamiento génico.....	48
3.	CONCLUSIONES.....	49
4.	BIBLIOGRAFÍA.....	51

LISTA DE TABLAS

Tabla N° 1. Ejemplo de algunas toxinas específicas.....	28
Tabla N° 2. Genes de resistencia y avirulencia clonados en diferentes Patosistemas.	41

LISTA DE FIGURAS

Figura N° 1. Formas y rugosidades de frutos de Cacao.	7
Figura N° 2. Corte transversal de mazorcas. Fuente. Crouzillat, <i>et al.</i> 2000.	7
Figura N° 3. Tipos y formas de Cacao. Fuente: Aránzazu <i>et al.</i> , 2009.....	9
Figura N° 4. Estructura de la flor de cacao. Fuente: Crouzillat, D <i>et al.</i> 2001	10
Figura N° 5. Ciclo de vida de <i>Moniliophthora roreri</i>	13
Figura N° 6. Síntomas y signos atípicos de una infección por <i>M. roreri</i> en frutos de Cacao, <i>Theobroma cacao</i> L.	15
Figura N° 7. Control biológico natural de <i>M. roreri</i> en frutos de Cacao (<i>Theobroma cacao</i> L).....	19
Figura N° 8. Modelo de siembra con resistencia a <i>M. roreri</i> en el municipio de San Vicente de Chucuri en Santander.	25
Figura N° 9. Mecanismos de resistencia en plantas.	36
Figura N° 10. Modelo Zig-Zag propuesto por Jones and Dangl, 2006.	37
Figura N° 11. Vías de señalización durante las respuestas de defensa en plantas.	47

INTRODUCCIÓN

La domesticación del Cacao (*Theobroma cacao* L), se dio hace 2.600 años en Mesoamérica (Motamayor *et al.*, 2002; Bartley 2005), aunque el cacao comenzó a ser difundido a nivel mundial poco después del contacto con Europa (Ploetz, 2006), manteniendo toda la producción en el hemisferio occidental hasta inicios del siglo XX . Al finalizar este mismo siglo y a principios del siglo actual, los países productores de Cacao en Latinoamérica representan el 15% de la producción del mundo. El 78% restante se origina de continentes como África, Asia y Oceanía, con porcentajes del 71% para el primero y 14% para los dos restantes (ICCO XXXVI, 2009). La razón principal de esta drástica disminución, tanto en producción como en área cultivada, fue la presencia de enfermedades como la Moniliasis y la Escoba de Bruja (*Moniliophthora perniciosa*), que no se encuentran en el Hemisferio oriental.

El Cacao es uno de los cultivos perennes más importantes del mundo debido a su empleo en la fabricación de chocolate (Almeida *et al.*, 2007), según el uso industrial, la especie *Theobroma cacao* L es la más utilizada de las 22 que conforman el género *Theobroma* L, (Schnell, 2005). Los últimos datos estadísticos reportados por (FAO, 2008) para la siembra de Cacao en el mundo revelan más de 3.9667.983.625 ha, hasta el año 2008. Igualmente Fedecacao 2013, reporta una producción mundial de 3.966 MTM , liderada por países como Costa de Marfil con 1.475 toneladas y Ghana con 820 toneladas. En Colombia, el Cacao es considerado un producto de alto valor energético, se consume principalmente como chocolate de mesa, aunque también es utilizado como materia prima para confitería, productos farmacéuticos y cosméticos (Ploetz, 2007). Institucionalmente ocupa el tercer renglón de la agenda exportadora agropecuaria como generador importante de divisas para el País. Además de la importancia en la industrial el cacao tiene una figura social muy significativa a nivel mundial, pues las características agroclimáticas y geográficas tan específicas que posee lo ubican en países subdesarrollados localizados en zonas tropicales sobre la línea ecuatorial, representando el sustento de una gran cantidad de Agricultores (Efombagn *et al.*, 2007).

Según Ploetz y Morais citado por (Lanaud, 2009), la actividad cacaotera para el 2009 genero más de US \$73.000 millones, de los cuales dependen más de 60.000 puestos de trabajo.

Al cierre del año cacaotero 2014 la producción nacional llegó a 47.706 toneladas frente a 46.700 del periodo inmediatamente anterior, beneficiando alrededor de 35.000 familias y constituyendo un cultivo de economía campesina de gran importancia para el país. Según el Ministerio de Agricultura, para el año 2019 se espera que Colombia cuente con 300.000 hectáreas de cacao, las que producirían 450.000 toneladas anuales, de las cuales 150.000 serían para consumo interno, y las restantes con destino a los mercados internacionales, meta trazada por el Gobierno Nacional y el gremio cacaotero (Fedecacao, 2014).

A pesar de la claridad que existe actualmente sobre la competitividad y la generosidad del cultivo del Cacao, diversos elementos han permitido que la planta sea altamente susceptible a nuevas plagas y enfermedades (Ploetz, 2007), entre ellas, su domesticación, relativamente lejana al centro de origen y la adaptabilidad de la especie a diferentes regiones agroclimáticas. Ocasionando una coevolución constante y una adaptación rápida de los enemigos naturales al nuevo huésped. Estas limitaciones bióticas causan pérdidas en la producción de todas las regiones cacaoteras del mundo, constituyendo el mayor obstáculo en la producción del cacao (Gotsch, 1997).

Como país centro de origen del género *Theobroma cacao* L, Colombia registra una de las bases genéticas más amplias y diversas del mundo, propiedades que le han permitido a la planta perdurar a través del tiempo. En ese sentido, es importante mencionar los mecanismos de defensa en las plantas, interacciones bioquímicas que se pueden dar a través de las vías de señalización o rutas metabólicas que permiten el reordenamiento de la transcripción génica de la planta, para la activación de los mecanismos de defensa con múltiples respuestas en las que se pueden incluir la hipersensibilidad, la producción de especies de oxígeno reactivas (ROS), la producción de ácido salicílico (AS), la producción de óxido nítrico (ON), la señalización por Map Kinasas (MAPK), la síntesis de lignina (refuerzo de pared-barreras estructurales), los compuestos antimicrobianos (Fitoalexinas), las proteínas relacionadas con patogenicidad (genes *PR*) y la regulación proteica (complejo Ubiquitina (UB)-proteosoma) (López, 2007). Al respecto, el patosistema Cacao-Monilia, ha tenido una interacción constante por cerca de 200 años, tiempo en el cual el patógeno ha logrado colonizar todas las zonas agroecológicas donde se produce en las Américas. Periodo donde el patógeno desarrolló mecanismos de infección haciendo al cacao más susceptible al patógeno. Entender los mecanismos involucrados en la interacción planta patógeno, permitirá tanto concentrar los esfuerzos de los

elementos de control culturalquímicos biológicos y genéticos, como comprender la reacción de la planta frente a la infección del patógeno, dilucidando cuáles son los mecanismos de defensa involucrados y que moléculas pueden activarlos.

Componentes de defensa que constituirán una herramienta importante dentro de los programas de manejo integrado de plagas y enfermedades que podrán ser implementadas como métodos de control más eficientes y alternativos para la Moniliasis. Estas herramientas, generarían un impacto a nivel técnico y productivo, pues la inducción de la resistencia genética en una planta podría ser activada por la aplicación de moléculas simples, que generen una huella metabólica y fisiológica al interior de la planta, desencadenando respuestas de defensa que terminaran en una disminución sustancial de la incidencia del patógeno en el campo. Al respecto, instituciones como el departamento de agricultura de Estado Unidos (USAID, 2006), reportan el uso de moléculas como el ácido salicílico en la activación de los mecanismos de defensa de las plantas.

No obstante, es claro, que aún se desconoce gran parte de los mecanismos involucrados en las respuestas de defensa en la interacción Cacao (*Theobroma cacao* L) -Monilia, sin embargo, al contrastar otros Patosistemas, se podría encontrar similitud en aspectos bioquímicos y moleculares importantes dentro de las respuestas de defensa de la planta a enfermedades. Por consiguiente, la presente monografía plantea la siguiente pregunta: ¿Las bases conceptuales de la interacción planta-patógeno que existen actualmente en la literatura, permitirá comprender las bases conceptuales del mecanismo de interacción Planta-Patógeno” (Patosistema Cacao-Monilia)?. Información que puede denotar en la creación de métodos alternativos que complementen el manejo integrado de la enfermedad, fortaleciendo programas fitosanitarios que resulten en metodologías de control más efectivas y duraderas que mejoren la calidad de vida del agricultor, dentro de una agricultura sostenible.

1. GENERALIDADES DEL CULTIVO DE CACAO

1.1 Clasificación taxonómica.

Según Alverson *et al.*, 1999 la ubicación taxonómica se describe de la siguiente forma. Dominio Eucaria, Reino Plantae, Subreino Tracheobionta (plantas vasculares), División *Magnoliophyta* (plantas con flores, angiospermas), Clase *Magnoliopsida* (dicotiledóneas), Subclase *Dilleniidae*, Orden *Malvales*, Familia *Malvaceae*, Subfamilia *Byttnerioideae*, Género *Theobroma*, Especie. *T. cacao* L.

1.2 Descripción morfológica de la planta de Cacao.

El árbol presenta un tallo principal que se desarrolla verticalmente hasta una altura de 0.8 a 1.5 metros en forma normal, las flores se producen en el tronco, ramas y tallos leñosos y sus frutos o mazorcas crecen directamente del tronco y de las ramas más antiguas; en la parte externa del fruto presenta una cáscara o pericarpio, y en la parte interna está compuesto por semillas o granos ordenados por hileras, alrededor de un eje central llamado placenta, en la cual los granos están cubiertos por un mucílago rico en azúcares. La maduración del fruto ocurre entre los 150 y 180 días después de la polinización de la flor, dependiendo del origen genético y del clima donde se desarrolla. Las hojas adultas son simples y enteras, medias coráceas de color verde. Cuando están pequeñas el color puede variar de verde pálido a café claro o pueden tener tonalidades rojizas. Las hojas del cacaotero son caducas, y por lo general cada dos o tres meses se presentan picos de brotación de nuevas hojas, que reemplazan a las que se caen (Cuatrecasas 1964).

Según el mismo autor, los frutos son bayas indehiscentes, mejor conocidas como mazorcas que pueden variar de forma, espesor, rugosidad, color y tamaño según su origen genético. Se observa toda una gama de colores, que en estado inmaduro van de tonos verdes, rojizos y cafés; con surcos y lomos pigmentados, mientras que en estado maduro varían de amarillo, café amarillento a rojizos anaranjados. Los surcos y lomos se presentan en número de 10, siendo profundas o leves según la variedad de cacao, En su interior las mazorcas tienen cinco lóculos o cavidades donde están alojadas las

semillas, las cuales varían en tamaño y número según la variedad. La cantidad de semillas en cada mazorca depende del número de óvulos en cada ovario.



Figura N° 1. Formas y rugosidades de frutos de Cacao.

Fuente: Crouzillat, D *et al.* 2001

El color interno de las almendras es violeta pálido o lila, como se puede apreciar en la ilustración 2, aunque en algunas ocasiones se observan semillas blancas. La mazorca está unida al tronco del árbol por un pedúnculo grueso. El tiempo desde la fecundación hasta la madurez fisiológica de una mazorca es alrededor de 180 días.

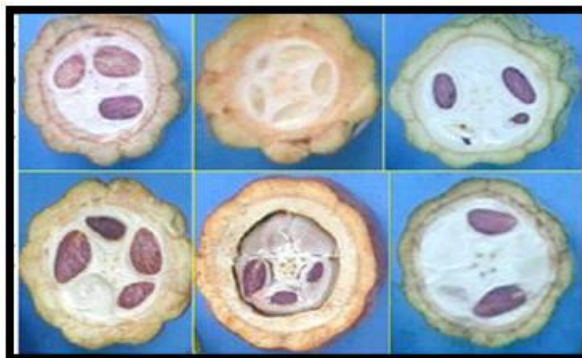


Figura N° 2. Corte transversal de mazorcas. Fuente. Crouzillat, *et al.* 2000.

1.3 Tipos de Cacao

Existen diversas hipótesis sobre los tipos y orígenes del Cacao. Entre las más importantes se pueden mencionar a (Van Hall, 1914) quien plantea un origen en

Orinoco y Amazonas; (Cheesman, 1944; Cuatrecasas, 1964) quien esboza un origen en Amazonas y centro américa; (Schultes 1984) con un planteamiento de domesticación en Suramérica y dispersión a Centroamérica por migraciones humanas; (Wood & Lass 1985) con su reporte de tres grupos Criollos, Forasteros y Trinitarios. Al respecto, (Motamayor *et al.*, 2002,2008) realiza el planteamiento más aceptado hasta el momento con la presencia de criollos ancestrales y modernos, con un origen en el norte de Suramérica y una introducción por el hombre a Centroamérica, clasificando al género *Theobroma cacao* L, en 10 grupos genéticos denominados de la siguiente forma: Amelonado, Contamana, Criollo, Curaray, Guiana, Iquitos, Marañón, Nacional, Nanay y Purús.

No obstante, los tres grupos genéticos básicos inicialmente reportados fueron clasificados en tres clases, para efectos informativos se mencionan a continuación con las principales características de cada uno de ellos:

-Tipo Forastero: originario de alta Amazonia, son llamados amazónicos, tienden a ser amelonados, su cascara es lisa y gruesa con poca rugosidad y surcos poco profundos. Es el tipo de cacao más cultivado y de menor calidad en relación con el sabor y el aroma que confieren los granos al chocolate elaborado con ellos, pero tiene mejor rendimiento en contenido de grasas entre otras características. Se produce en Trinidad, Ecuador, África, Asia y Brasil.

-Tipo Criollo: de aspecto rugoso, con diez surcos profundos y cascara delgada, escaso contenido de taninos y empleado en la chocolatería fina. Su manejo es complejo pues el bajo rendimiento y la alta susceptibilidad a plagas y enfermedades dificultan su establecimiento bajo cultivos comerciales; dentro de este grupo se clasifican los cacaos originarios de México, Centroamérica y Venezuela.

-Tipo híbrido: entre los que se destaca el Trinitario, (originario de Trinidad) es un cruce sexual entre el Criollo y el Forastero, su calidad es más próximo al Forastero. Sin embargo, presenta la robustez de éste y el delicado sabor del cacao Criollo. Muchos clones conocidos en la actualidad como Universal, fueron seleccionados en Trinidad a partir de poblaciones híbridas, es decir, corresponden a individuos sobresalientes de la descendencia de aquellos cruzamientos. Actualmente se cultiva

en Colombia y presentan resistencia a algunas enfermedades fungosas entre ellas Escoba de bruja causada por *Moniliophthora perniciosa*.

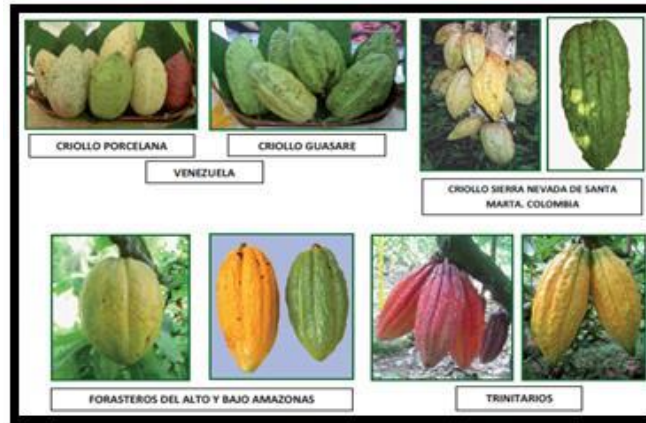


Figura N° 3. Tipos y formas de Cacao. Fuente: Aránzazu *et al.*, 2009.

Esta hibridación natural generó diferentes formas en los frutos conocidas actualmente como Amelonado, Cundeamor, Angoleta y Calabacillo (Aránzazu *et al.*, 2009).

1.4 Fenología del Cacao

El cacao es una planta que responde a los hidroperíodos y dependiendo de éstos se da su comportamiento y desarrollo (García, 1983) Por lo tanto si la región o lugar de establecimiento del cultivo presenta una época de lluvia es unimodal (Urabá, Llanos Orientales) o dos épocas de lluvias es bimodal (Andina y Montaña Santandereana). Dependiendo de estas condiciones presenta cuatro etapas para el desarrollo de la planta:

-Período de reposo: Condición climática seca, formación escasa de frutos.

-Período vegetativo: abundante, con menor prioridad en frutos y mayor prioridad en crecimiento vegetativo.

-Período reproductivo: El árbol desarrolla gran parte de sus flores y frutos.

-Período de cosecha: Período de la cosecha principal que dura de 2 a 3 meses.

Morfología de la flór. La flor individual del cacao (figura N°4) tiene un pedicelo largo y fino de 1 a 1,5 cm de longitud, se compone de cinco sépalos agudos y rosados, de seis a ocho mm de largo, pubescentes, que en la flor abierta se expanden

formando ángulo recto con el peciolo. La corola consiste de cinco pétalos blancos de seis a ocho mm de largo. El centro de la flor lo ocupa el tubo estaminal, compuesto por cinco estambres fértiles, cortos y doblados hacia fuera, cada uno encerrado en la concha de un pétalo; y de cinco estaminoideos internos, agudos y largos de posición erecta que rodean al gineceo. El ovario es súpero con cinco celdas y placentación central, con 30 a 50 rudimentos seminales. El estilo se abre arriba en cinco ramas estigmáticas y algunas pueden permanecer soldadas. (García, 1983).

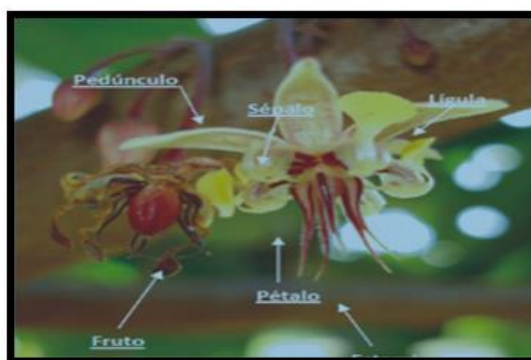


Figura N° 4. Estructura de la flor de cacao. Fuente: Crouzillat, D *et al.* 2001

1.5 Distribución agroecológica del cacao

En Colombia el cultivo de cacao se desarrolla actualmente en las zonas de Valles Interandinos secos, la zona Marginal Baja Cafetera, la Montaña Santandereana y el bosque Húmedo Tropical. Cada una de estas zonas cuenta con condiciones de clima, topografía y suelos que las hace en mayor o menor medida aptas para el desarrollo del cultivo del cacao. De acuerdo a estos resultados para Santander se determinó:

La mayor región productiva se encuentra en la montaña santandereana (MS). La cual incluye principalmente los departamentos de Santander y Norte de Santander, con una precipitación entre los 1.500 a 2.000 mm repartidos a través del año, la altura en esta zona varía entre 500 y 1.000 m.s.n.m. Como ejemplos de la zona se encuentran las áreas cacaoteras de los municipios de San Vicente de Chucurí, Landázuri, El Playón y Ríonegro. Por lo general los suelos en esta zona son arcillosos con una fertilidad media a baja y topografía quebrada. Esta es la zona donde se encuentra la mayor área cacaotera del país. La maduración del fruto allí va de los 5 a 6 meses (Fedecacao, 2012)

1.6 Importancia del cultivo del Cacao

Su valor radica por ser uno de los cultivos perennes más importantes del mundo debido a su empleo en la fabricación de chocolate Almeida *et al.*, (2007). Según el uso industrial, la especie *Theobroma cacao* L es la más utilizada de las 22 que conforman el género *Theobroma* L, Schnell (2005). Los últimos datos estadísticos reportados por FAO (2008) para la siembra de Cacao en el mundo revelan más de 3.9667.983.625 ha, hasta el año 2008. Igualmente Fedecacao 2013, reporta una producción mundial de 3.966 MTm (figura 1), liderada por países como Costa de Marfil con 1.475 MTm y Ghana con 820 MTm.

A nivel mundial, el Cacao (*Theobroma cacao* L) tiene una figura social muy significativa, pues las características agroclimáticas y geográficas tan específicas que posee lo ubican en países subdesarrollados localizados en zonas tropicales sobre la línea ecuatorial, representando el sustento de una gran cantidad de Agricultores (Efombagn *et al.*, 2007). En Colombia el cultivo de cacao se desarrolla actualmente en las zonas de Valles Interandinos secos, la zona Marginal Baja Cafetera, la Montaña Santandereana y el bosque Húmedo Tropical (Fedecacao, 2012). Cada una de estas zonas cuenta con condiciones de clima, topografía y suelos que las hace en mayor o menor medida aptas para el desarrollo del cultivo del cacao.

Según el año cacaotero 2012/2013, África registro la mayor producción con 2.826.000 MTM seguido por Asia-Oceanía con 534 y América con 606 MTM. En Latinoamérica, Brasil es el país que reporto la mayor producción con 195.000 t, seguido por Ecuador con 185.000 t y Republica Dominicana con 60.000 t. Colombia ocupa el 4 lugar con 45.000 t. Fedecacao-ICCO (2013).

Como cultivo representa uno de los sistemas agroforestales más antiguos de la franja tropical, conocido desde los tiempos pre-colombinos por los mayas Bergman (1969), el cual se puede establecer bajo diversos sistemas de sombras con otras especies de valor económico. Almeida *et al.*, (2007) en su publicación Ecofisiología del árbol de Cacao, menciona algunos de los más importantes como *Areca catechu* , *Cocos nucifera* Daswir *et al.*, (1988); Liyanage (1985); Alvim *et al.*, (1989), *Hevea brasiliensis* , *Syzigium*

aromaticum, *Cinnamomum zeylanicum*, *Erythrina fusca* Alvim; (1989^a); Alvim, (1989b) , *Bactris gasipaes* Almeida *et al.*, (2002a) y otras especies amazónicas.

1.7 La Moniliasis del Cacao, taxonomía y ciclo de vida

La Moniliasis del Cacao, es causada por *Moniliophthora roreri*, un hongo basidiomiceto considerado como la enfermedad potencial más peligrosa del cultivo del Cacao. En las Américas, es la principal enfermedad del cultivo, a nivel mundial, no registra un impacto significativo en la disminución de la producción del grano, pues a un no se encuentra en los países más productores, sin embargo, por su actitud epidémica y sus características fisiológicas y metabólicas puede colonizar cualquier condición agroclimática donde se desarrolla el cultivo del Cacao.

Según su clasificación taxonómica, se ubica dentro del dominio Eukaryota, reino Fungi, filum Basidiomycota, clase Basidiomycetes, subclase Agaricomycetidae, orden Agaricales, familia Marasmiaceae, genero *Moniliophthora* y especie *M. roreri*.

Moniliophthora roreri, es un hongo hemibiotrofo (Griffith *et al.*, 2003), debido a que posee una etapa biótropa y una necrotrofica. Autores como (Evans *et al.*, 2002), mencionaron posibles estados anamorfos y telomorfos del hongo, basados en sus asociaciones con *Crinipellis perniciosa*, ahora llamada *Moniliphthora perniciosa* (Phillips, 2005) sin embargo, el último año presento evidencias del estado meiotico de las esporas de *M. roreri*, proponiendo una fase sexual producto de una división meiotica durante las fase de formación de esporas y germinación, dando lugar a hifas infectivas monocarióticas durante la etapa intercelular y biotrófica. Según Torres (2010), una señal no identificada asociada con la edad del fruto, estimula la transición a la fase diploide necrotrofica, la cual induce los síntomas característicos de la enfermedad. Por otra parte, Griffith *et al.*, 2003, señala que esta característica parece indicar que un antepasado de *M. roreri* perdió la capacidad de formar basidiocarpos pero no la capacidad de experimentar división nuclear mitótica.

En Colombia, la Moniliasis está actualmente presente en todas las áreas productoras de cacao de importancia (Fedecacao, 2014), lo que incluye los departamentos de Santander, Nariño, Norte de Santander, Huila, Arauca, Tolima, Antioquia, Risaralda, Cundinamarca, Valle, Cauca, Cesar, Magdalena, Meta, Chocó, Quindío y Caquetá

(Barros, 1970; Cubillos, 1970; Rojas, 2000). Según (Fedecacao 2013) el departamento de Santander durante el año 2012 produjo más de 16.200 Tn con 6.400 Tn de Cacao seco pérdidas por Moniliasis. En ese sentido la cotización en la bolsa de New York durante el mes de Enero de 2014 fue superior a US\$2700/Tn, representaba casi 42 millones de dólares solo en este Departamento (Arguello, 1996).

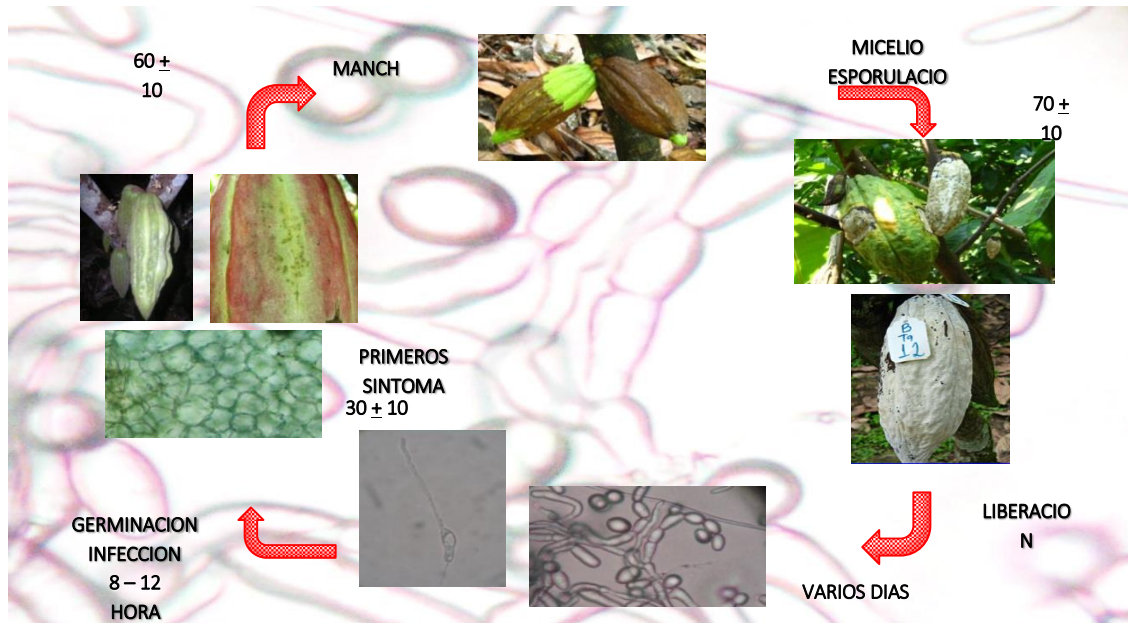


Figura N° 5. Ciclo de vida de *Moniliophthora roreri*.

Fuente: El autor.

En regiones ubicadas a más de 1000 m.s.n.m, condiciones como la temperatura y la humedad relativa desfavorecen la dispersión de las esporas, demorando alrededor de 80 \pm 10 días para que el fruto enfermo evidencie los síntomas y signos y complete su ciclo de infección. En Regiones ubicadas por debajo de los 600 m.s.n.m, estas mismas condiciones aceleran el ciclo de la infección, llegando a completarlo en 50 \pm 10 (Fedecacao 2012). Sin embargo, independientemente de las condiciones ambientales, el ciclo de vida comienza con la época seca, una vez los frutos esporulados han logrado iniciar la dispersión de las esporas, ya sea por corrientes de aire, vibraciones del árbol durante la cosecha o poda.

Generalmente no se necesita lluvias abundantes para que estas esporas puedan iniciar la infección, tan solo con el rocío de la noche y la madrugada la espora puede tomar el líquido necesaria para iniciar este proceso. Esto explica por qué en países con estaciones secas prolongadas el hongo en algunas regiones logra mantener su ciclo infeccioso (Evans 1981). En Colombia, seguramente esta característica, sumada a las lluvias bimodales que existen, le permiten al hongo mantenerse activo durante todo el año.

1.8 Síntomas y signos del agente causal

Síntomas

Las condiciones descritas anteriormente según lo cual el ciclo de la enfermedad se puede ver afectado, también se extiende la aparición de los primeros síntomas, los cuales pueden ser variables aún en frutos de un mismo cultivar inoculados artificialmente en forma simultánea. Según (Phillips 1986), esto podría explicar las amplias diferencias entre autores con respecto a esta fase de la infección. (Aránzazu *et al.*,1977) indica que al inocular frutos de diversas edades, los primeros síntomas pueden aparecer entre los 54 y los 78 días después de la inoculación. Así mismo (Aránzazu 1987), afirma que los primeros síntomas se hacen visibles a partir de la 5 semana dpi, con aparición de micelio entre los 3 y 9 días después del primer síntoma.



**Figura N° 6. Síntomas y signos atípicos de una infección por *M. roreri* en frutos de Cacao, *Theobroma cacao* L.
Fuente: Autor**

En la figura 8 se muestran los síntomas atípicos más comunes presentados por cultivares de Cacao reconocidos por la resistencia a la infección de *M. roreri*. Generalmente se puede observar una dilatoriedad en la expresión de la esporulación del hongo, así como un impedimento físico en la continuidad de la mancha. Igualmente se pueden presentar manchas necrosadas muy oscuras, pequeñas y ligeramente hundidas, a veces rodeadas por halos de maduración prematura otras por hongos biocontroladores (Phillips-Mora 2004; Fedecacao 2012). En frutos de cultivares susceptibles, es común observar el crecimiento interno del hongo a través de la necrosis del tejido epidermal o pericarpio. Sin embargo en esta figura, se puede observar como existe una respuesta de resistencia parcial a la infección del patógeno.

Cuando la infección ocurre en frutos menores de 20 días de edad se produce un marchitamiento similar al provocado por “*Cherelle wilt*” o al ocasionado por otras enfermedades (Phillips-Mora 2004). En frutos de mayor edad, pero menores de dos meses ocurren deformaciones, jibas o madurez prematura (Phillips-Mora 2003; Fedecacao 2012). Aquellos que han sido infectados a una edad superior a los tres meses en algunos casos solo evidencian puntos aceitosos concentrados, generalmente en la parte interna ya se encuentra totalmente necrosado (figura 8). Más adelante el fruto se puede deshidratar y momificar, permaneciendo en el árbol como fuente de inoculo o desprendiéndose del mismo e inactivándose en el suelo (Aránzazu 1979).

Signos

El hongo se caracteriza por tener un crecimiento lento y concéntrico con un diámetro de 8 a 15 mm después de 2 semanas en Agar Extracto de Malta (AEM) (Evans 1981). Sus colores pueden variar entre un salmón a un café claro (Arbeláez 2010). La temperatura puede estar entre los 22 a 33 °C (Merchán 1981). Sus hifas son hialinas, pared delgada y septada, sin conexiones en clampa, pero con doliporo, las esporas pueden presentar pared gruesa o delgada, de forma globosa o subglobosa, algunas veces elipsoides (Phillips 2003). También pueden ser cilíndricas de pared delgada; sus esporas son

heteromorfas con formas predominantemente esferoides, elipsoides y ovoides elipsoides, con tamaños entre 5-10 μm de largo y 5-15 μm de ancho Arbeláez (2010).

Las esporas que permanecen en los frutos momificados pueden experimentar un sobre engrosamiento de la pared celular, con desprendimiento ligero. Seguramente como mecanismo de dispersión para aumentar el grado de incidencia de la enfermedad. Campuzano, 1981).

1.9 Manejo Químico

Las condiciones agroecológicas en las que se desarrolla el cultivo del Cacao, la altura de la planta, la formación de frutos durante todo el año y su distribución en toda la estructura de la planta, complican la efectividad y la eficiencia de los controles, manteniendo una dificultad para proteger los frutos durante los 5 o 6 meses de su desarrollo (Phillips 2003). Según este escenario, es importante el uso de sustancias químicas protectantes y sistémicas como compuestos activos es a base de cobre ya sea sistémico (Azoxystrobin) o de contacto (clorotalonil) Flood *et al.*, (2004). El uso de fungicidas de tipo preventivo como el óxido cuproso ha sido utilizado frecuentemente para su control, Ram (1989), Arguello (2000); no obstante otros compuestos han sido evaluados pero con resultados no tan prometedores, entre ellos el Flutolanil por (Bateman 2005).

Al respecto, (Torres de la Cruz 2010), evaluó el compuesto Azoxystrobin y determinó el efecto de la molécula sobre la germinación y la esporulación de las esporas, destacando en su trabajo la importancia de tener en cuenta los sistemas productivos bajo el cual se realizan las evaluaciones para el control químico del hongo, donde factores como la productividad, el área de evaluación y los precios del momento pueden afectar los resultados, no obstante, autores como (Phillips, 2005), consideran el control químico como antieconómico y en algunos casos ineficaz. Reportes contrastados con las publicaciones de autores como (López 1998) quienes coinciden en que la selección de fungicidas efectivos contra *M. royeri* podrían dar resultados favorables si se tienen en cuenta factores como la resistencia de las cepa y el uso eficiente en cacaos productivos (Quevedo 2012).

Actualmente se utiliza el grupo de las estrobilurinas como un conjunto nuevo de fungicidas que inhiben la respiración en las mitocondrias, alterando la producción de energía en las células de *M. royeri* y evitando la producción de ATP (Bartlett *et al.*, 2002).

Por otra parte una alternativa que se ha generado recientemente a los fungicidas son los biofungicidas y los productos no convencionales Aranzazu, 2013 generalmente constituidos por moléculas biológicas derivadas de animales, plantas, bacterias y ciertos minerales (Jaimes *et al.*, 2010), seguramente por las ventajas que ofrecen entre las cuales se pueden considerar la baja o nula toxicidad, su compatibilidad dentro de un manejo integrado y la no presencia de efectos nocivos para el agroecosistema bajo el cual se desarrolla el Cacao.

1.10 Manejo Biológico

El control biológico es considerado como una herramienta confiable, segura y compatible, afín a prácticas químicas, culturales y genéticas, que lo constituyen en un elemento valioso del manejo integrado de plagas y enfermedades (Peshin *et al.*, 2009). En fitopatología el termino se aplica al “uso o manipulación de organismos vivos, nativos o introducidos que estimulen la resistencia de la planta o supriman la actividad en poblaciones de uno o más fitopatógeno (Hoyos 2012). Su característica principal es la reducción de la población del patógeno hasta niveles inferiores al índice de daño económico, mas no se caracteriza por eliminar completamente el patógeno, particularidad que ha marginado la efectividad de la técnica. Seguramente por el tradicionalismo que se tiene con los controles químicos y la supresión inmediata del patógeno.

Los primeros estudios sobre el uso de microorganismos para el control de enfermedades asociadas al cultivo del Cacao fueron reportados por Bravo *et al.*, (1978a, 1979) y Jiménez (1985) quienes obtuvieron sustancias inhibidoras y bacterias antagonistas a *Moniliophthora royeri*. Generalmente son aislados de la microbiota del suelo, de la

superficie de las hojas (epifitos) o partes aéreas de la planta y en algunos casos de los espacios intercelulares de la planta (microorganismos endófitos). (Hoopen *et al.*, 2003); (Hoyos 2013).

Colombia como centro de origen de *Moniliophthora roreri* cuenta con el mayor potencial de agentes de biocontrol Phillips-Mora *et al.*, 2007 seguramente originados por interacción constante del patosistema (coevolucion). Convirtiendo el territorio en un agroecosistema relevante para la búsqueda y selección de Biocontroladores. Generalmente una vez los microorganismos benéficos han sido seleccionados, son preparados bajo mezclas y formulaciones, entre los cuales se encuentran se pueden mencionar los siguientes ejemplos: *Clonostachys rosea*, *Trichoderma* sp, *Clonostachys byssicola*, *Trichoderma ovalisporum*, *T. koningiopsis* y *T. paucisporu*, reportados como controladores por medio de la inhibición del crecimiento y la esporulación de *M. roreri* (Krauss *et al.*, 2001-2003-2006; Evans *et al.*, 2002; Melnick *et al.*, 2008).

En pruebas de laboratorio, principalmente hongos como (*Trichoderma* sp), reportan una gran efectividad para inhibir a *M. roreri* por competencia de nutrientes, micoparasitismo y antibiosis, sin embargo, en bioensayos controlados de campo no se evidencian estos mismos resultados. Numerosos mecanismos se han descrito para la interacción Planta-patógeno-biocontrolador-ambiente, todos dependiendo de factores como la capacidad propia que tenga el microorganismo para establecerse, su especificidad con el hospedero, la dinámica de la población y la habilidad para movilizarse dentro de los tejidos del hospedero (Backman 2008; Melnick *et al.*, 2008; Hoyos 2012), debiendo superar adversidades como las condiciones climáticas y la interacción con la microbiota que los rodea.

Una vez el biocontrolador se sobrepone a estas barreras, debe contar con el poder de inducir resistencia sistémica en la planta, para lograr una permanencia y un control preciso sobre la población del patógeno. Autores como (Jaimes *et al.*, 2010), definen a un biocontrolador eficaz para la Monilia como aquel que tenga la capacidad de colonizar rápidamente los tejidos epidérmicos del fruto, de forma que pueda competir por espacio y por nutrientes con las esporas del hongo, evitando así su germinación.

Los mecanismos desarrollados por los biocontroladores pueden ser clasificados como directos o indirectos, según sus efectos en el patógeno y la planta. El primero ocurre si el hongo tiene un contacto físico con la planta y un alto reconocimiento del patógeno, el segundo produce cambios morfológicos o bioquímicos en la planta modificando o modulando las poblaciones del patógeno por cambios en su entorno (Hoyos 2013). Para implementar el control biológico como un elemento fundamental de un plan de manejo integrado de enfermedades de cacao, es preciso conocer la naturaleza del agente biocontrolador, descifrando sus modos de acción y los mecanismos determinados (Hoyos 2013), con los cuales lograra establecerse dentro de un ambiente.

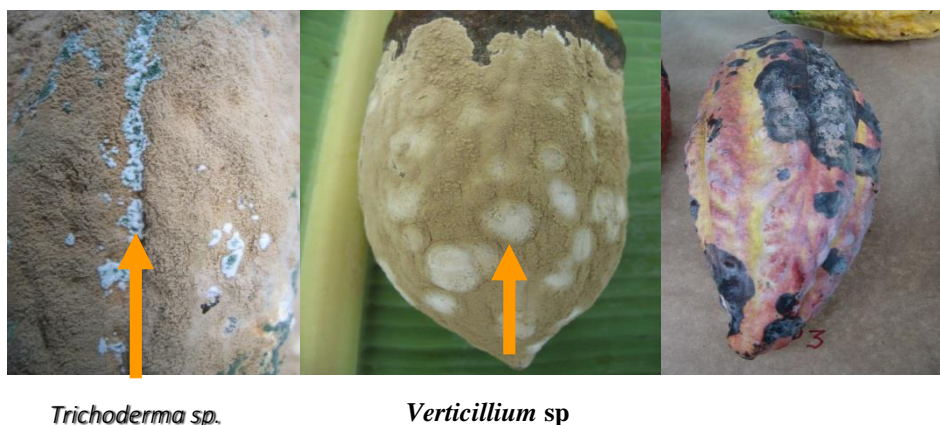


Figura N° 7. Control biológico natural de *M. roreri* en frutos de Cacao (*Theobroma cacao* L).

Fuente: Tomada de Aránzazu 2012, modificada por el Autor

En los últimos años Colombia ha realizado estudios dirigidos a la búsqueda de microorganismos biocontroladores, instituciones como Corpoica, Fedecacao y diferentes Universidades promueven esfuerzos para la evaluación de estos agentes, encontrando que hongos como *Clonostachys* sp, y bacterias como los *Bacillus* sp, y las *Pseudomonas* siguen predominando como los biocontroladores por excelencia para *Moniliophthora roreri*. (Krauss *et al.*, 2001; Ten Hoopen *et al.*, 2003; Krauss *et al.*, 2003).

1.11 Manejo cultural

El control mediante las prácticas culturales constituye una de las herramientas más importantes para disminuir la presión de inóculo dentro de un cultivo de Cacao. Es considerado como la técnica más eficaz para reducir la fuente de inóculo del patógeno. Está conformada por un manejo agronómico apropiado que incluye labores como el corte cada 8 días de frutos enfermos en cualquier etapa de desarrollo (Krauss *et al.*, 2003), el desyerbe o control de hierbas y arbustos que aumentan la densidad vegetal y la predisposición de hospederos temporales para las esporas de *Monilia*, la recolección y apilado de las cáscaras infectadas, dejándolas sobre el suelo y aplicando cal dolomítica para acelerar el proceso de descomposición, evitando la continuidad en la formación de esporas del hongo. (Aránzazu 1979; Gonzales 1981; Phillips 1986); igualmente prácticas como la regulación de sombra, la fertilización, el drenaje de los suelos, la cosecha y beneficio oportuno de los frutos (Delgado *et al.*, 1982) y todas las prácticas que involucre disminuir la humedad relativa, mejoren la circulación del aire y disminuyan las condiciones apropiadas para el crecimiento del patógeno (Aránzazu 1979; Barros 1970; Phillips 1986)

Prácticas culturales como la poda, constituyen el elemento más importante para la formación de la planta. Actualmente en Colombia existen algunas técnicas que involucran el manejo del árbol permitiéndole a la planta mantener un equilibrio constante entre el dosel de hojas y el leño maduro, necesario para la formación de cojines florales y frutos. A esta técnica se le ha llamado poda en Cono Natural (Báez 2012). Así mismo se incluyen otras técnicas como la poda de formación, sanitaria y de rehabilitación, contribuyendo de una forma muy eficaz para el control del patógeno en el cultivo del Cacao (Aránzazu, 2013). Todas estas prácticas ayudan al óptimo desarrollo del árbol, fortaleciendo sus mecanismos de defensa y evitando el ingreso de nuevas enfermedades.

2. CAPITULO DOS. MECANISMOS DE INTERACCIÓN PLANTA-PATÓGENO

Los mecanismos de interacción planta patógeno en el patosistema Cacao (*Theobroma cacao* L), – Monilia han sido poco estudiados; recientemente investigaciones como la secuenciación del genoma de Cacao (*Theobroma cacao* L), el genoma mitocondrial de *M. roreri* y el estudio del secretoma de Cacao (*Theobroma cacao* L), han contribuido al entendimiento de las posibles relaciones bioquímicas que pueden suceder durante los momentos de interacción entre la célula vegetal y el patógeno. En tal sentido, en el presente capítulo se desarrollará en forma de monografía, construyendo el cuerpo del trabajo a través de una revisión bibliográfica de las principales investigaciones que fortalecen la comprensión de los mecanismos de interacción involucrados en dicho patosistema.

El objetivo se apoyará en la búsqueda de los conocimientos asociados a los mecanismos de interacción planta-patógeno, buscando siempre su asociación con el conocimiento disponible en la actualidad sobre el patosistema Cacao-Monilia.

2.1 Manejo genético del Cacao

La interacción constante a través de los años entre una población de un hospedero y una de un patógeno se define como un Patosistema (Agrios, 2008). El Patosistema *Moniliophthora roreri* – *Theobroma cacao* L, forma parte integral del ecosistema del cultivo del cacao (*Theobroma cacao* L) con más de 200 años de relaciones evolutivas; según (Phillips, 2005) la coevolución del patosistema ha logrado que *M. roreri* pueda imponerse sobre los mecanismos de defensa de la planta de cacao, condición que es apoyada por el planteamiento de (Ingle *et al.*, 2006), quien reporta los diferentes mecanismos de defensa en plantas. Mecanismos que son bioquímicos y que pueden romper la inmunidad encendida tanto por el patógeno como por sus efectores

Por otra parte, según los mecanismos de interacción y diversidad genética del Cacao (*Theobroma cacao* L), (Aránzazu, 2013), plantea como la dispersión de cultivo de Cacao más allá de su centro de origen, ha facilitado a la planta crear una gran fuente de diversidad genética, adaptada a factores medioambientales propios a cada región donde se encuentre; proposición apoyada por (Ampuero, 1967); (Phillips, 1986) quienes

mencionan como una gran variedad de atributos agronómicos pueden incrementar la posibilidad de encontrar materiales con diversos grados de resistencia a la enfermedad). Desde el punto de vista genético, siempre se ha discutido a través de diferentes autores sobre el término correcto (Resistencia o Tolerancia) para hacer referencia a una planta de Cacao que interactúa con *M. roreri* y evidencia una respuesta de disminución del daño por infección. Autores como (Parlevliet, 1979) definen la resistencia como la capacidad de la planta para reducir la incidencia o desarrollo del patógeno; la Tolerancia como la capacidad de la planta para soportar la presencia del patógeno con poca o ninguna reacción, la cual puede ser expresada, por ausencia casi completa de síntomas o daño. Lo anterior no ha evitado el hecho que existan diferencias entre la respuesta a la infección por *M. roreri* en tipos y cultivares de Cacao (Ampuero, 1967; García *et al.*, 2004; Naundorf 1954), evaluados por medio de infección natural Delgado *et al.*, 1960 citados por (Phillips, 1986).

En tal sentido y para favorecer el entendimiento de los mecanismos que están involucrados en la expresión génica de diferentes tipos de respuesta durante un proceso de infección por *M. roreri*; en los últimos años, el mundo dio inicio a programas de mejoramiento en Cacao, entre ellos, los programas de Perú (UNAS) de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, en Bahía - Brasil el CEPLAC, el INGENIC o grupo internacional para el mejoramiento del Cacao, y en Costa Rica, el Programa de Mejoramiento Genético del CATIE. Este último ha predominado por la identificación de clones tolerantes a Moniliasis con distinto origen genético y/o geográfico (Phillips *et al.*, 2012), todos basados en el incremento de la productividad y la resistencia a enfermedades.

Características y esfuerzos que a un futuro cercano permitirá la selección de materiales según sus componentes de rendimiento o fitosanitarios, construyendo un paso importante dentro de los programas de mejoramiento y el primer avance para la comprensión de los mecanismos de interacción en el patosistema Cacao-Monilia.

Por otra parte, al tomar la primicia de que todo evento de susceptibilidad es una respuesta de resistencia tardía (Agrios, 2008) es decir, que toda planta no se considera

como un hospedero pasivo ante el ataque de un microorganismo, todas las plantas de Cacao serían consideradas como susceptibles a *M. royeri*; al respecto, (Brown *et al.*, 2007), relaciona la resistencia a *M. royeri* como un evento Poligénico, al estar gobernado por 3 regiones QTLs en los cromosomas 2, 7 y 8 de los 10 que contiene el genoma de la planta. Resultados apoyados por (Argüello *et al.*, 2000), quien a pesar de no existir en la actualidad un modelo específico para la resistencia a *M. royeri*, describe la importancia de la interacción génica para conferir algún tipo de resistencia

Los principales trabajos realizados en mejoramiento genético hacia la búsqueda de la resistencia tuvieron origen en Trinidad, donde clones trinitarios llamados Imperial College Selección (ICS) fueron seleccionados por diferentes características, entre ellas productivas y de resistencia (Fedecacao, 2012). Según Phillips *et al.*, (2012) en su publicación Catálogo de Cultivares de Cacao, tomaron como base la amplia diversidad genética contenida en su Colección Internacional de Germoplasma (IC3), identificando clones tolerantes a Moniliasis con distinto origen genético y/o geográfico, cruzando progresivamente los clones para obtener variedades con niveles crecientes de resistencia, aprovechando de esta forma el carácter predominantemente aditivo que tiene esta característica en Cacao (Cervantes-Martínez *et al.* 2006), citado por Phillips *et al.*, (2012)

Algunos países de las Américas han seleccionado cultivares de diferentes regiones con características sobresalientes, entre ellos se encuentran el UF-273 y UF-712 (Costa Rica, 1960), EET-75 (Ecuador, 1965 – 1966), ICS-95 (Trinidad, 1959) y PA-169 (Perú, 1961) Phillips (2012). Así mismo, la unión de países centroamericanos productores de Cacao ha permitido crear estrategias de control genético, dentro de las cuales se han identificado clones como el CATIE (CATIE-R1, CATIE-R4, CATIE-R6, CC-137, ICS-95 T1 y el PMCT-58 (Phillips *et al.*, 2012) no obstante, aún son motivo de estudio en una red de jardines clonales en países como Panamá, Costa Rica, Nicaragua, Honduras, Guatemala y Belice. Con esto, pretenden definir las características de adaptación a los diferentes agro- ecosistemas donde están siendo evaluados.

Los resultados anteriores fortalecen a Colombia, como país centro de origen de *M. royeri*, evento que ha permitido una convivencia más prolongada con la enfermedad; brindando una amplia posibilidad en la búsqueda de cultivares nuevos con

características importantes. En los últimos años, entidades como la Federación Nacional de Cacaoteros FEDECACAO, y la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria CORPOICA, han seleccionado cultivares colombianos por características de rendimiento y fitosanitarias en todas las regiones del País. Por su parte, Fedecacao ha trabajado bajo la técnica de selección varietal participativa. Una herramienta que tiene en cuenta los conocimientos del agricultor; en esta metodología, se seleccionan los mejores árboles híbridos de cada finca, bajo criterio del propietario y del técnico extensionista, los cuales son ingresados a un programa de selección de árboles con características sobresalientes en rendimiento, calidad y resistencia a plagas y enfermedades (Fedecacao, 2012), donde son evaluados en tres fases de investigación.

Al respecto, (Phillips, 2012), menciona que el objetivo de este seguimiento, es el conocimiento agronómico de los cultivares, caracterizando su rango de adaptación y la existencia de interacciones genotipo x ambiente, corroborando su adaptación a las condiciones agroclimáticas de cada región, para luego aprobar o desaprobar su uso y distribución como cacao comercial.

Así mismo, (Aránzazu *et al.*, 2013), señala materiales regionales colombianos, con características de resistencia importantes a *M. roreri* dentro de su revisión “catálogo de clones. Resultados que se fortalecen con las investigaciones del Instituto Colombiano Agropecuario ICA y la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria Corpoica, quienes reportan clones regionales e introducidos con un buen nivel de resistencia, entre ellos el ICS 95, y moderadamente resistentes los clones CCN 51, IMC 67, clasificación y escala propuesta por (Phillips 2005). Además, (Phillips *et al.*, 2012) reporta la importancia de conocer estos genotipos resistentes de Cacao y como podrían proporcionar una alternativa genética para el control de *M. roreri*, duradera y de bajo costo.

Estudios que pueden derivar en la mejor comprensión de los mecanismos de interacción del patosistema Cacao, aplicables al fortalecimiento de las medidas de control dentro de un manejo integrado de plagas y enfermedades.

Según (Phillips *et al.*, 2012), todos aquellos estudios de investigación básica que involucren tanto mecanismos de infección como de respuesta defensivas de la planta,

podrán derivar en el incremento productivo y el establecimiento del Cacao (*Theobroma cacao* L) bajo ambientes infestados con Moniliasis.

En la actualidad, instituciones como la Federación Nacional de Cacaoteros están implementando es el uso de modelos de siembra por resistencia y con renovación de copa de árboles susceptibles e improductivos por clones resistentes a enfermedades y plagas (Aránzazu, 2013). En la figura 1 se presenta un modelo de siembra con resistencia a *M. roreri*. En la misma figura se puede observar cómo se pueden distribuir programáticamente una serie de tres o cuatro clones caracterizados por tener un porcentaje de compatibilidad aceptable y un grado de resistencia alto a *M. roreri*. Un segundo tipo de control genético se apoya en la capacidad que tiene la planta de Cacao para renovar sus raíces, con lo cual se busca seleccionar los arboles improductivos y susceptibles para renovarlos a través de una injertación en leño grueso (cambio de copa) con cultivares de resistencia (Fedecacao, 2012). Los dos métodos se pueden mezclar constituyendo un tipo de control que busca producir Cacao en ambientes infestados con Moniliasis para generar una alternativa de siembra en donde la única opción hasta hace poco era el abandono o cambio de actividad de las plantaciones como fue reportado en diferentes épocas por (Phillips-Mora y Wilkinson 2007; Phillips 2012).

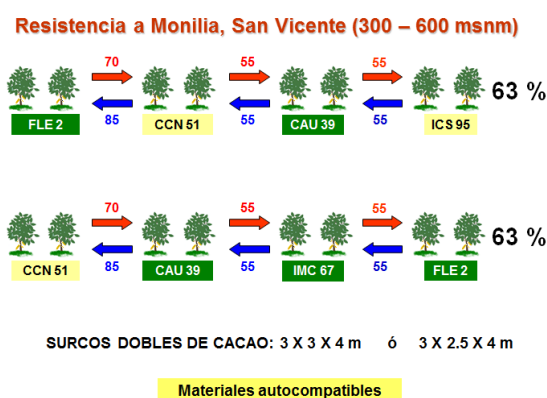


Figura N° 8. Modelo de siembra con resistencia a *M. roreri* en el municipio de San Vicente de Chucuri en Santander.
Fuente: Tomado de Aránzazu 2013.

Al mismo tiempo, autores como (Phillips, 1986); (Agrios, 2008); (Fedecacao, 2012), reportan el conocimiento de los mecanismos de resistencia genética, como un método

duradero y eficaz para el control de *M. roreri*, pues, a pesar de todos los esfuerzos en la búsqueda de controles que permitan disminuir el daño económico ocasionado por el patógeno y los resultados positivos que se tienen con algunas herramientas para el control, aún no evidencian una adopción completa de la tecnología disponible para el manejo.

Los mecanismos de interacción entre el patógeno *M. roreri* y la célula vegetal del Cacao han sido definidos por las interacciones evolutivas que hayan tenido a través del tiempo; al respecto, (López, 2007). define diferentes alternativas para establecer el primer contacto del patógeno con la célula vegetal, entre las más importantes se pueden mencionar las interacciones mecánicas, enzimáticas, por aperturas naturales y heridas previas del tejido vegetal o mezclándolos como alternativas para la preinfección o infección del tejido vegetal.

2.2 Preinfección e infección del *Moniliophthora roreri*

Los procesos de preinfección e infección de *M. roreri* en las células vegetales de Cacao (*Theobroma cacao* L), deben cumplir algunos pasos previos, uno de los más importantes es la adhesión y germinación en la superficie vegetal, proceso preliminar al crecimiento y colonización celular. No obstante, para que esto pueda suceder el hongo basidiomicete (*M. roreri*), debe romper la cutícula vegetal generalmente a través de mecanismos de interacción, entre los más importantes se encuentran las fuerzas mecánicas y la acción enzimática. Según (Tiburcio, *et al.*, 2010), una vez el hongo logra establecer el primer contacto, la espora o conidio puede germinar y formar un apresorium o estructura que facilita la penetración a través de la pared; resultados que fortalecen lo reportado por (Meindhart, *et al.*, 2014) quien menciona que una vez el conidio germinado de *M. roreri*, se encuentra dentro de la célula, el tubo germinativo produce una célula madre de alimentación o invaginación de la membrana plasmática de la célula vegetal, que le servirá al hongo para alimentarse y desarrollarse según su fisiología y metabolismo, el cual es biotrófico (alimentación de culas vivas) en sus primeras fases de desarrollo y hemibiotrofo (etapa biótropa y hemibiotrofa) (Varki, 2009; Meindhart, *et al.*, 2014).

Al respecto, (Melnick *et al.*, 2013), en sus estudios sobre el efecto de la infección de *Moniliophthora roreri* en los cambios moleculares y metabólicos de frutos jóvenes de Cacao (*Theobroma cacao*, L), reporta como durante el proceso de pre-infección e infección del patógeno, se pueden producir incrementos en las moléculas intermedias del ciclo del ácido tricarboxílico, así como se pueden estimular la inducción de rutas de defensa asociadas a vías metabólicas del ácido jasmónico y el etileno.

Por otra parte, dependiendo del tipo de microorganismo se puede establecer el proceso inicial de infección, algunos han especializado su ingreso a través de heridas causadas ya sea por transmisión a través de vectores o por instrumentos y herramientas humanas. Ejemplo de ello son los virus, los cuales tienen una relación directa entre su dispersión y el tipo de alimentación del vector, condicionando su transmisión a la dieta alimenticia del mismo.

Las bacterias al igual que los hongos pueden iniciar su proceso de infección tanto por aberturas naturales (estomas y lenticelas), como por heridas ocasionadas por factores bióticos y abióticos. No obstante, también han desarrollado mecanismos complejos de interacción como el Quórum sensi, herramientas de comunicación que le permiten a las bacterias comunicarse entre ellas para la producción de exopolisacaridos que facilitaran la adhesión, germinación y colonización del tejido vegetal (Varki, 2009).

Según (Huckelhoven, 2007), en los hongos el inoculo puede estar constituido por esporas, esclerocios (una masa compacta de micelios) o los fragmentos de micelio. Su interacción con la célula vegetal es compleja, pues aún no es claro cuáles son los mecanismos iniciales que intervienen en la adhesión y germinación celular; no obstante el proceso de penetración siempre es realizado de forma directa tanto mecánica como por acción enzimática.

2.3 Bioquímica de los patógenos

Entre los compuestos químicos más utilizados por los patógenos para establecer procesos iniciales de interacción se encuentran las enzimas, toxinas y polisacáridos, moléculas que pueden cumplir funciones degradantes de pared celular, bloqueo de los

mecanismos de defensa de la planta y protección a la deshidratación en la superficie celular de la planta.

2.4 Enzimas, toxinas y polisacáridos en *Moniliophthora roreri*.

Los procesos bioquímicos utilizados generalmente en el patosistema Cacao (*Theobroma cacao* L) – Monilia (*Moniliophthora roreri*) aún no son descritos con claridad; no obstante, en gran parte de los microorganismos estos procesos están constituidos por polisacáridos, enzimas y toxinas; entre las enzimas se encuentran las degradadoras de pared celular como las pectinasas, las cuales también tienen funciones de proveer nutrientes al patógeno en los tejidos infectados (Huckelhoven, 2007).

Las toxinas son moléculas bastante evolucionadas y específicas que han desarrollado los patógenos para la inactivación de enzimas o proteínas determinadas de especies vegetales.

En Cacao (*Theobroma cacao* L), la descripción química y funcional de las toxinas aún está en discusión, no obstante, existen algunos ejemplos claros sobre la funcionalidad de algunas toxinas en otros patosistemas. Entre ellos, la toxina victorina producida por *C. victoriae* que infecta específicamente plantas de avena. La toxina inhibe la función mitocondrial, por lo cual las plantas son incapaces de activar sus mecanismos de defensa (López, 2007). En la tabla 1, se presentan algunas toxinas específicas de patosistemas reconocidos. En la misma tabla se puede también observar las toxinas más importantes asociadas a patosistemas de interés económico.

Tabla N° 1. Ejemplo de algunas toxinas específicas

Toxina	Microorganismo	Planta hospedero
HC	<i>Cochliobolus</i> , Raza I <i>Helminthosporium carbonum</i>	Maíz
HS	<i>H. sacchari</i>	Caña de Azúcar
ACL	<i>Alternaria citri</i> (raza limón)	Limón agrio
ACT	<i>A. citri</i> (raza tangerina)	Tangerina dancy
AL	<i>A. alternata</i> f. sp. <i>Lycopersici</i>	Tomate
AF	<i>Alternaria</i> sp	Fresa-Peral Japonés
AT	<i>Alternaria</i> sp	Tabaco
CC	<i>Perenophora teres</i>	Cebada
PM	<i>Phyllosticta maydis</i>	Maíz

PC	<i>Pericornia circinata</i>	Sorgo
----	-----------------------------	-------

Fuente: López, 2007.

Así mismo, algunas hormonas son utilizadas por las bacterias, aunque también son empleadas por los hongos para producir un crecimiento descontrolado de las células vegetales, en Cacao, algunos de los patosistemas más reconocidas son *Moniliophthora perniciosa* y *Moniliophthora roreri*, en otros patosistemas se pueden resaltar a *P. syringae* pv. *savastanoi*, *Agrobacterium tumefaciens* y *Pantoea herbicola* pv. *gysophylae*. Entre la más importante se encuentra la auxina o ácido indol 3 – acético (IAA), la cual en altas concentraciones puede crear crecimientos descontrolados de los tejidos vegetales.

Los polisacáridos son mezclas de azúcares dispuestos en patrones específicos de unidades repetidas, su función básicamente es la de evitar la desecación en las superficies de las hojas o en la rizosfera, aunque también pueden proteger contra compuestos vegetales tóxicos o frente a las defensas inducidas por las plantas (López, 2007).

2.5 Mecanismos de defensa en plantas

El agroecosistema en el que se desarrolla el Cacao, el carácter patógeno de *Moniliophthora roreri*, su adaptabilidad y las propiedades de resistencia y susceptibilidad de la planta, han definido la capacidad invasiva del patógeno. La presencia y las características de estos elementos, actuando de manera concertada, definieron la susceptibilidad de la planta López (2007). Al respecto, (Ingle *et al.*, 2006), reporta como las plantas no poseen un sistema inmune que le permita defenderse de todos los patógenos, pero si posee una serie de mecanismos que le permite reconocer, interactuar y bloquear o eliminar su colonización y multiplicación. Resultados apoyados por (Dangl JL *et al.*, 2001; Nu"rnberger *et al.*, 2005), quienes asocian la susceptibilidad a un fitopatógeno como la excepción a la regla, ya que solo una pequeña parte de los hongos, virus, bacterias y nematodos pueden ocasionar enfermedad.

En términos generales en el patosistema Cacao (*Theobroma cacao* L), *Moniliophthora roreri*, puede ser patogénico o no, así como puede ser virulenta o poco virulenta, en ese

sentido, la patogenicidad de *M. roreri*, se podría definir como la habilidad del patógeno para causar o no enfermedad en las cultivares de Cacao (*Theobroma cacao* L). Así mismo, el término de virulencia determina el rango de la enfermedad (Moniliasis), es decir, si la enfermedad tiene un alto grado de daño en el hospedero (*Theobroma cacao* L) se puede reconocer como muy virulento, en el caso que el daño interno sea leve, se podrá relacionar con una baja virulencia (Agrios, 2008)

En tal sentido, (Ingle *et al.*, 2006) reporta como las plantas se encuentran naturalmente bajo una interacción constante con los patógenos, a pesar de ello, pueden permanecer sanas debido a la activación de varios mecanismos de defensa, los cuales pueden ser activados de forma no específica, tanto por factores bióticos como abióticos, entre ellos, el choque térmico, la sequía, sustancias químicas y luz ultravioleta. Causando daños físicos que desencadenaran reacciones de resistencia.

Igualmente (Wittstock *et al.*, 2002), citado por (López, 2007), reporta como algunas de las barreras primarias que debe superar el patógeno pueden estar de forma constitutiva en la célula, ejemplo de ellas la Pared celular, los glucósidos, saponinas, alcaloides, proteínas antifúngicas e inhibidores enzimáticos, o pueden ser inducidas producto del reconocimiento celular del patógeno, entre los que se encuentran formaciones de lignina, calosa, fitoalexinas, estrés oxidativo y proteínas R, así mismo, respuestas de hipersensibilidad y activación de varios genes de defensa. Mecanismos que se pueden encontrar de forma constitutiva en la célula.

En la actualidad no se ha reportado la primera planta de Cacao (*Theobroma cacao* L), que en su estado natural pueda permanecer sana frente a la infección por el patógeno., en tal sentido, el Pato sistema Cacao- *M. roreri*, es considerado como una interacción compatible (Flor, 1955) ya que las defensas de la planta no logran contener el patógeno haciéndola susceptible a su infección. En el caso de ser una interacción incompatible se consideraría la primera planta de Cacao con resistencia completa a *M. roreri*, con capacidad de contener la infección y colonización del hongo.

Al respecto, (Bailey *et al.*, 2013; Melnick *et al.*, 2013), reportan diferentes cambios moleculares y metabólicos durante el proceso de infección de *M. roreri*, así como durante sus fase biótropa y necrótropa; así mismo, asocian la activación de diferentes

rutas de defensa involucradas en el metabolismo del ácido jasmónico, etileno y tricarbólicos. Resultados que se pueden asociar con lo reportado por autores como (Flor 1955; Hammond *et al.*, 1996-2003; Dickinson 2003; Ingle *et al.*, 2006 y López 2007), quienes mencionan los tipos de resistencia que se reconocen actualmente, entre ellas la de tipo cuantitativa, cualitativa y no-hospedero. La primera se considera no específica u horizontal y se caracteriza por presentar una variación continua del nivel de resistencia en la planta. La resistencia cualitativa, se considera de tipo vertical por no presentar variación en el nivel de resistencia, controlada por genes mayores y clasificada como de carácter monogénica. También se conoce como raza-específica pues se asocia al modelo de gen por gen establecido por (Flor, 1955). Se caracteriza por tener variedades de plantas que contienen genes *R* dominantes interactuando con los genes *Avr* dominantes del patógeno produciendo una reacción incompatible o de resistencia. Así mismo aquellas interacciones que impliquen genes recesivos de la planta y del patógeno conducirá a la enfermedad o una interacción compatible (Flor, 1955).

La resistencia de tipo no hospedero, se asocia a aquellas barreras físicas y constitutivas que se encuentran en las plantas donde aún no existen una interacción propia entre un patógeno y una planta hospedera. Según (López, 2007), en la mayoría de los casos no se observa reacción de hipersensibilidad clara, sin ser este el factor determinante para definirla. Varios o pocos genes la controlan clasificándola como de carácter Poligénico, contribuyendo cada uno de manera parcial y aditiva a la resistencia. Así mismo, (Brown *et al.*, 2007) menciona los 10 cromosomas que conforman el genoma de la planta, de los cuales el 2, 7 y 8 contienen características cuantitativas de resistencia a *M. royeri*, sin definir cuales o cuantos de sus genes esta implicados en el proceso. Sin embargo, su influencia controla múltiples pasos de los procesos fisiológicos y bioquímicos que le pueden llegar a permitir a la planta a detener el patógeno.

La resistencia de tipo cuantitativa se puede asociar a algunos cultivares de Cacao, los cuales no logran protegerse suficientemente de la infección por *M. royeri*, pero si logran dilatar el avance y la dispersión de la enfermedad, reduciendo la expansión y el desarrollo del patógeno. Según (Bailey *et al.*, 2013; Melnick *et al.*, 2013), las

interacciones en el patosistema Cacao, se podrían entender como respuestas de resistencia activas, puesto que implican una serie de reacciones enzimáticas y metabólicas enfocadas en contener la colonización de un patógeno. Entre ellas, se pueden mencionar las resistencias genéticas tanto inducidas como adquiridas, las cuales están condicionadas por la expresión génica de las células vegetales y el reconocimiento de un patógeno (García y Lozoya, 2004). En tal sentido, el conocimiento de las bases moleculares de estos tipos de resistencia es muy importantes para lograr desarrollar alternativas de manejo a las enfermedades de Cacao, sin embargo, actualmente se desconocen, pues en gran medida durante los últimos años las investigaciones se han desarrollado de forma aplicada.

2.6 Defensas constitutivas

Las defensas constitutivas en el patosistema Cacao-Monilia aún no se conocen con claridad, no obstante, estas son las primeras barreras que debe superar *M. roreri* durante el proceso de infección de los frutos de Cacao (*Theobroma cacao* L), se caracterizan por estar presentes de forma integral en las especies vegetales. La cutícula es una de ellas, la cual está formada por capa de ceras, cutina, celulosa y pectina para evitar la penetración de *Moniliophthora roreri*. Estos mecanismos son barreras físicas que evitan en gran medida el avance intercelular del patógeno, sin embargo, la interacción constante del patosistema ha generado que los microorganismo puedan superar este tipo de barreras para las cuales las células vegetales han desarrollado la inducción de sistemas de defensa más específicos y efectivos para evitar el proceso de infección.

Al respecto, (Bailey et al., 2013; Melnick et al., 2013), reportan la activación de vías metabólicas asociadas a la defensa contra la infección por *M. roreri* y a metabolismos del ácido jasmónico, etileno e intermediarios en el ciclo del ácido tricarboxílico.

2.7 Resistencia sistémica Inducida

En la actualidad no son claros los mecanismos involucrados en la resistencia sistémica inducida (SIR) el Patosistema Cacao (*Theobroma cacao* L) -Monilia (*Moniliophthora roreri*). Al respecto, autores como (Lydel et al., 2014), en su revisión “Genoma and secretome anlysis of the hemibiotrophic fungal pathogen, *Moniliophthora roreri*, which causes frosty pod rot disease of Cacao (*Theobroma cacao* L): mechanims of the

biotrophic and necrotrophic phases”, reportan como *M. roreri*, en su fases biotrofa y necrótrofa puede activar rutas metabólicas asociadas a la defensa de la planta, no obstante su estudio se centra en la expresión de genes asociados a los mecanismos de infección y preinfección del patógeno.

Según (Hernández *et al.*, 2006), este tipo de resistencia utiliza las defensas estructurales y bioquímicas constitutivas en la planta, generalmente inducidas por un estímulo externo; donde autores como. (Valland *et al.*, 2004) resalta la interacción entre las Rizobacterias y las células vegetales (*P. aeruginosa* 7NSK2), la cual tiene la capacidad de producir ácido salicílico para generar resistencia a *B. cinérea*. Al respecto, (Hernández *et al.*, 2006) reporta la inducción de resistencia genética contra *Colletotrichum lindemuthianum* y *B. cinérea*, gracias a la aplicación de *Pseudomonas aeruginosa* en suelo y semillas de frijol *Phaseolus vulgaris* L.

2.8 Resistencia sistémica adquirida

La resistencia sistémica adquirida (SAR), es reconocida por la activación de la expresión de genes de resistencia y patogénesis, puede tanto crear barreras bioquímicas de defensa contra la infección por *Moniliophthora roreri*, como transmitirse a las demás células vecinas de Cacao, es de amplio espectro y se puede mantener por más tiempo (Lopez, 2007). Entre los compuestos más estudiados como elicitores de este tipo de resistencia se pueden mencionar el ácido salicílico (AS), el acibenzolar-S-Methyl, y algunos compuestos elaborados con poliaminas y activadores de Ca^{2+} -Calmodulina.

Al respecto, (Sanzon y Zavaletta 2011), menciona entre las respuestas de resistencia mediadas por esta vía, la reacción de hipersensibilidad, la cual se caracteriza por ser localizada y específica. Este tipo de respuesta se apoya en la interacción gen a gen (*R-Avr*) para evitar el avance físico del patógeno, produciendo muerte celular programada de las células adyacentes al punto de infección y bloqueando del desarrollo de la enfermedad; mecanismos elicitados a través de señales químicas que pueden inducirse de forma sistémica en la planta, proporcionando protección a una diversidad de patógenos

Según (Hernández *et al.*, 2010), en este tipo de resistencia pueden interactuar diferentes vías de transducción de señales que podrán condescender en la habilidad de la planta de Cacao (*Theobroma cacao* L) para defenderse de la infección por *M. roreri*. Así mismo, (Días *et al.*, 2009), menciona como la expresión génica en la planta, siempre estará ligada a su mecanismo de defensa, variando su localización y propiedades dentro de la célula. Así mismo, en su trabajo resalta como la expresión de dos tipos de enzimas b-1,3-glucanasas se puede dar en diferentes momentos, ya sea por vías de resistencia sistémica adquirida o por reacciones de incompatibilidad o resistencia completa.

2.9 Especies reactivas de oxígeno ROS

Según (Rivera, 2007), uno de los resultados de la activación de los mecanismos de defensa en la planta, son la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), las cuales pueden inducir la producción de iones super-óxidos, peróxido de hidrógeno y radicales hidropéroxidos. Estas moléculas pueden producir la peroxidación de los lípidos la subsecuente destrucción de la membrana celular. Generalmente, tienen un efecto tóxico directo sobre el patógeno, así como pueden estimular otros mecanismos de defensa. Autores como (Benezer *et al.*, 2008), reportan evidencias de como las especies reactivas de oxígeno pueden contribuir a la muerte de las células vegetales adyacentes al punto de infección, bien sea por actividad fitotóxica directa de la célula infectada o bien estimulando los genes que provocan la muerte programada (reacción hipersensible o apoptosis).

De acuerdo con (Sanzon y Zavaleta, 2011), la reacción de hipersensibilidad (HR) se considera como la máxima expresión de resistencia de las plantas al ataque por patógenos. Durante la HR las células adyacentes al punto de infección sufren apoptosis para detener el avance del patógeno. Mecanismo reportado por (Zandbergen *et al.*, 2010) para reconocer la muerte celular programada, respuesta controlada desde el núcleo que involucra una serie de eventos metabólicos que conducen a la destrucción de la célula. Parte de las reacciones metabólicas involucradas en este proceso pueden asociar acumulación de compuestos fenólicos, produciendo pérdida de permeabilidad, respiración acelerada, acumulación y oxidación de fenoles, así como un incremento de los niveles de fitoalexinas (Goodman *et al.*, 1996).

En el patosistema Cacao-Monilia, aún no se cuenta con reportes de este tipo, sin embargo, autores como (Lipka *et al.*, 2010), reportan la dependencia de genes adicionales para la realización de HR, los cuales parecen estar presentes tanto en individuos resistentes como susceptibles en mutantes de maíz (*Zea mays*), tomate (*Solanum lycopersicum*) y *Arabidopsis thaliana* L; confiriéndole a la planta la habilidad de responder hipersensitivamente aún en situaciones donde no existe la relación *R-Avr*. Sin embargo, la capacidad para detener la infección de un patógeno por reacciones de hipersensibilidad, siempre estará condicionada a las capacidades metabólicas y alimenticias de los patógenos (Biótrofo, hemibiotrofo y necrótrofo).

2.10 Resistencia No-hospedero

Según (Zandbergen *et al.*, 2010), la resistencia de tipo no-hospedero es la más común en las plantas, su efectividad depende tanto de las barreras preformadas como de reacciones inducidas. Su reconocimiento produce la activación del sistema de defensa denominado actualmente como defensa basal. Se caracteriza por la capacidad de una especie de planta para reconocer todos los tipos de un patógeno particular. Al mismo tiempo, autores como (Dichkinson 2003; Ingle *et al.*, 2006; López 2007), reportan como su mecanismo de acción se basa tanto en la formación de papilas ricas en calosa como en la producción de especies de oxígeno reactivas (ROS) y el incremento en la expresión de genes de la vía de fenilpropanoides y genes asociados con la defensa como PR. En cuanto a las bases moleculares de este mecanismo, en los últimos años se ha presentado un gran avance con la publicación del modelo Zig-Zag Jones y Dangl, (2006), quienes representan de forma gráfica la evaluación de la inmunidad vegetal. En este modelo se pueden encontrar tres etapas de reconocimiento, dos involucradas en la planta (PTI y ETI) y una que involucra al patógeno (ETS). En la figura 2, se presentan los mecanismos de resistencia en plantas. En la misma figura se puede detallar como el modelo inicia con el reconocimiento en la planta de moléculas conservadas esenciales en el patógeno (PAMPs), por parte de proteínas receptores moleculares (PRRs) generalmente situadas en la membrana plasmática de la planta (Gómez-Gómez y Boller, 2000; He *et al.*, 2007; Boller y He, 2009; Zipfel, 2009; Thomma *et al.*, 2011; Monaghan y Zipfel, 2012).

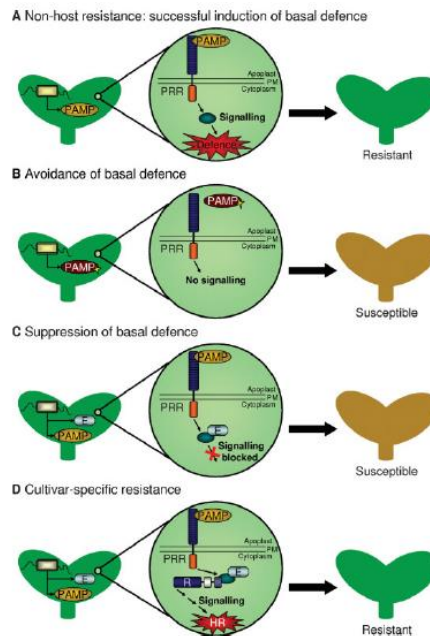


Figura N° 9. Mecanismos de resistencia en plantas. Fuente: Ingle *et al.*, 2006

Evento que logra una inmunidad encendida por patrones moleculares o PAMPs y es llamado (PTI). Este tipo de interacción es suficiente para detener la infección antes que el microorganismo comience la multiplicación y es efectiva contra patógenos potenciales no adaptados. Interacciones moleculares consideradas como la base de la resistencia no hospedero (Navarro *et al.*, 2004; Chisholm *et al.*, 2006; Schulze-Lefert y Panstruga 2011).

Sin embargo, la interacción constante a través del tiempo, permite la evolución de estos Patosistemas, logrando superar barreras impuestas, tanto por la planta como por el patógeno. En ese sentido, una vez un patógeno logra superar las barreras mediadas por la respuesta PTI (ver figura 11b y c) se genera una interacción compatible mediada por (ETS) o susceptibilidad encendida por efectores. Los efectores, son proteínas producidas por el patógeno (ver figura 11d) y que pueden evitar las cascadas de señalización molecular que intervienen en las respuestas PTI (Jones y Dangl, 2006). Ejemplo de ellos son los efectores TALEs (del inglés, transcription activator-like effector) (Bogdanove y Voytas, 2011; Muñoz *et al.*, 2012), proteínas producidas por fitopatógenos del genero *Xanthomonas* y *Ralstonia* para modular la regulación de la expresión génica de sus hospederos. En la figura 3, se presenta el modelo Zig-Zag. Allí,

al. (2001), demostraron otro tipo de interacción mediada por una tercera proteína llamada blanco de patogenicidad. Este modelo se basa en la detección de cambios inducidos por efectores de los patógenos en la proteína blanco de patogenicidad de la planta. Evento reconocido como Modelo del Gen Guardián. Así, la alteración de este blanco en el hospedero le conferirá éxito al patógeno en hospederos de genotipos susceptibles, pero inducirá la respuesta ETI en hospederos de genotipo resistente que posean la proteína *R* (Dangl *et al.*, 2001). Al respecto, otros autores han reportado el modelo guardián en varios Patosistemas (Mackey *et al.*, 2002; Caplan *et al.*, 2008; Lorang *et al.*, 2012), planteamientos apoyados por (Argout *et al.*, 2011), quien reportan esta misma familia de genes encontrados en el genoma de Cacao (*Theobroma cacao* L) Una de las principales conclusiones después de la secuenciación del 76% del genoma de *Theobroma cacao* L, fue la descripción del 82% de sus genes, los cuales se encuentran anclados a los 10 cromosomas que contiene la planta y evidencian la expansión específica de algunas familias de genes durante la evolución, como es el caso de los flavonoides. En su estudio, también muestran una fuente importante de genes candidatos para el mejoramiento de *T. cacao*, y como a través de un diagrama de Venn se pueden observar los genes compartidos entre los genomas de *T. cacao*, *Arabidopsis thaliana*, *Populus trichocarpa*, *Glycine max* y *Vitis vinífera*. Así mismo, relacionan al genoma de Cacao 253 genes tipo LRR-RLK ortólogos de genes de resistencia LRR-RLK de *Arabidopsis*. En cuanto a los genes *NBS* encontraron 297 ortólogos en el genoma, donde se resaltan los genes tipo *TIR*, y genes *NPR1* que se encuentran en *A. thaliana*. Características que permiten pensar como en el patosistemas Cacao (*Theobroma cacao* L) – Monilia (*Moniliophthora roreri*)

Por otra parte, una serie de autores liderados por Costa *et al.* (2012), Secuenciaron y compararon el genoma mitocondrial de *Moniliophthora roreri* con *Moniliophthora perniciosa*, resaltando el tamaño del ADN mitocondrial del patógeno (95 Kb) y encontrando su homología con el agente causal de la escoba de bruja. Al respecto (Argout, *et al.*, 2011), demuestra la presencia de dos tipos de (genes *R*), los de tipo *NBS-LRR* (sitios de unión a nucleótidos y repeticiones ricas en leucina) y los de tipo *RPK* (receptores proteína kinasa), así como un nivel relativamente alto de similitud en los procesos metabólicos y celulares, basados en la comparación y la

complementariedad de genomas (diagrama de Venn). Información que permitirá aún futuro cercano tanto el entendimiento de la bioquímica como el mejoramiento genético del Cacao y la mejor comprensión de las bases moleculares en el mecanismo de interacción Cacao (*Theobroma cacao* L) – Monilia (*Moniliophthora roreri*)..

egún (Meinhardt *et al.*, 2014), la expresión diferencial de genes durante la fase biótrofa y necrotrofa en la interacción Cacao (*Theobroma cacao* L)-Monilia, después de 30 y 60 días de infección, revelan más de 1535 genes putativos, evidenciando un secretoma que correlaciona la etapa de infección y el crecimiento intercelular con las fases biótropas y necrotrofas del patógeno, facilitando el crecimiento y la invasión de las células vegetales del cacao, así como la muerte celular durante la última fase

En tal sentido, la expresión diferencial de genes asociados a rutas metabólicas en clones tolerantes y susceptibles de Cacao (*Theobroma cacao* L), demuestran cambios en el nivel de expresión de cada material genético aún cuando en algunos genes la expresión sea de forma constitutiva, estas diferencias en la intensidad de la expresión de los genes, sugieren un reconocimiento rápido del patógeno y una activación de las respuestas de defensa en las células vegetales de Cacao. Patrones en la expresión génica de los clones tolerantes que se asocian a las vías de señalización reguladas por el Ácido Salicílico, Jasmonico y el Etileno (Shahin *et al.*, 2014).

2.11 Genes involucrados en la activación de los mecanismos de resistencia a enfermedades ocasionadas por Biótropos y Necrótrofos en Cacao (*Theobroma cacao* L).

Autores como (Phillips, 2012), reconocen el potencial invasivo que ha desarrollado *M. roreri* en los últimos años, al respecto, (Tiburcio *et al.*, 2010), reporta como el estilo de vida del patógeno le ha permitido adquirir de forma horizontal algunos genes asociados a los oomycetes (NEPs) y firmicutes (MPDH) de transferencia de genes, estudios basados en análisis filogenéticos y comparación de genes. Información genómica que fortalece los estudios involucrados en la activación de los mecanismos de resistencia a la infección por *M. roreri*

2.12 Genes R

Los genes R, pueden ser considerados como un producto de la coevolución de un Patosistema específico, los cuales a través de bases moleculares complejas lograron reconocer específicamente los componentes del patógeno, asociándolos como extraños a su constitución genética normal. Este evento conduce a la activación de mecanismos de defensa a través de respuestas desencadenadas tanto por receptores de patrones moleculares asociados a microorganismos MAMPS como por el reconocimiento de proteínas efectoras producidas por el patógeno (Ingle *et al.*, 2006; Dichkinson 2003; López 2007). Según (Martínez, 2015), los patrones moleculares pueden ser elementos constitutivos del patógeno difícilmente alterables por el mismo, o compuestos derivados de la degradación de la pared celular de la planta.

En el patosistema Cacao (*Theobroma cacao* L), Los eventos de resistencia, no están completamente descritos, no obstante, podrían conducir a una serie de respuestas dirigidas tanto por la planta como por el patógeno. Las primeras destinadas a bloquear la infección, el desarrollo y la colonización de *M. roreri* y la segunda gobernada por la superación de las barreras y las defensas inducidas de la planta de Cacao (*Theobroma cacao* L). Según (Ingle *et al.*, 2006), algunas de las más importantes se pueden mencionar de la siguiente forma: 1) la identificación y el bloqueo de las respuestas de defensa de la planta a través de proteínas llamadas efectoras, alterando la señalización y la expresión de las respuestas de defensa. 2) la detección de proteínas efectoras condicionadas por el accionar de las proteínas de resistencia.

Al respecto, (López, 2007), menciona como el *gen R* puede ser considerado como una unidad de información genética que codifica una proteína *R* caracterizadas por la presencia de dominios conservados, las cuales pueden activar vías de transducción de señales comunes para encender las respuestas de defensa. Igualmente, menciona como se pueden agrupar según la presencia o no de dominios estructurales. Las más estudiadas hasta el momento son las proteínas con dominio NBS (Nucleotide Binding Sites) y un dominio LRR (Leucine Rich Repeats). Esta última se puede dividir en dos subclases, la primera con dominio TIR (Toll Interleukin 1 Receptor) o una estructura de

tipo CC (Coiled Coil) en su extremo N-terminal, TNL y CNL respectivamente (López, 2007).

Genes efectores o *Avr*

Los genes efectores o *Avr*, son aquellos que pueden codificar proteínas responsables de interactuar con las proteínas producidas por los genes *R* (Flor 1955). En una reacción incompatible, las proteínas *Avr* son identificadas por las proteínas *R* de la planta, suprimiendo el desarrollo y la colonización del patógeno. Sin embargo, en una reacción compatible las proteínas codificadas por los genes *Avr* pueden bloquear los sistemas de defensa de la planta y producir la infección a través del desarrollo y la colonización del patógeno (Flor, 1955). Autores como (Hammond *et al.*, 2000; López *et al.*, 2007). reportan como cuando la proteína *Avr* es identificada por proteínas codificadas por genes *R*, se activan una serie de mecanismos de defensa, en los que se pueden encontrar la muerte celular localizada PCD o reacción hipersensible, especies de oxígeno reactivas ROS y flujos iónicos que usan la vía de transducción de señales con un papel importante de las MAP kinasas

En la tabla 2 se presentan los diferentes Patosistemas publicados hasta el momento, así como los genes *R* y *Avr* correspondientes a cada evento de interacción. En ese sentido, los términos efector y proteína *Avr* cumplen la misma función. Sin embargo el primer vocablo se utiliza principalmente en resistencias de tipo no-hospedero, es decir, cuando no se ha determinado la respectiva proteína *R* que reconocerá la proteína efectora. El segundo vocablo se utilizara solamente en Patosistemas donde ya se ha identificado la proteína *R* que reconoce la proteína *Avr*, antes llamada proteína efectora (López, 2007).

Tabla N° 2. Genes de resistencia y avirulencia clonados en diferentes Patosistemas.

Planta	Gen R	Localización	Gen Avr	Patógeno
Tomate	Prf	Intracelular	AvrPto	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i>
Arabidopsis	RPS2	Intracelular	AvrRpt2	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i>
Arabidopsis	RPM1	Intracelular	AvrRpm1, avrB	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>maculicola</i>
Arabidopsis	RPS5	Intracelular	AvrPphB	<i>Pseudomonas syringae</i> DC3000
Arabidopsis	RPP8	Intracelular	AvrRpp8	<i>Peronospora parasítica</i>
Tomate	Mi	Intracelular	-	<i>Meloidogyne incognita</i> , <i>Macrosiphum euphorbia</i>

Tomate	I2c	Intracelular	-	<i>Fusarium oxysporum</i>
Tomate	I2	Intracelular	-	<i>Fusarium oxysporum</i>
Arroz	Xa1	Intracelular	-	<i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>
Arroz	Pib	Intracelular	-	<i>Magnaporthe grisea</i>
Papa	Rx	Intracelular	Proteína de cápside	Virus X de la papa
Papa	Gpa2	Intracelular	-	<i>Globodera rostochiensis</i>
Trigo	Cre3	Intracelular	-	<i>Heterodera avenae</i>
<i>Capsicum</i>	Bs2	Intracelular	AcrBs2	<i>Xanthomonas campestris</i>
Maíz	RpI-D	Intracelular	-	<i>Puccinia sorghi</i>
Arroz	Pi-ta	Intracelular	AvrPITA	<i>Magnaporthe grisea</i>
Cebada	Mla	Intracelular	-	<i>Erysiphe graminis</i>
Tabaco	N	Intracelular	Replicasa	Virus del mosaico del tabaco
Arabidopsis	RPP1	Intracelular	-	<i>Peronospora parasitica</i>
Lino	L6 L1-12	Intracelular	-	<i>Melampsora lini</i>
Lino	M	Intracelular	-	<i>Melampsora lini</i>
Arabidopsis	RPP5	Intracelular	-	<i>Peronospora parasitica</i>
Arabidopsis	RPS4	Intracelular	AvrRps4	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>pti</i>
Arroz	Xa21	Extracelular	-	<i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>
Tomate	Cf-2	Extracelular	Avr2	<i>Cladosporium fulvum</i>
Tomate	Cf-4	Extracelular	Avr4	<i>Cladosporium fulvum</i>
Tomate	Hcr9-4E	Extracelular	Avr4E	<i>Cladosporium fulvum</i>
Tomate	Cf-5	Extracelular	Avr5	<i>Cladosporium fulvum</i>
Tomate	Cf-9	Extracelular	Avr9	<i>Cladosporium fulvum</i>
Remolacha	HSI pro-1	Extracelular	-	<i>Heterodera schachtii</i>

Fuente: Takken y Joosten 2000

2.13 Modelos de interacción

Diferentes modelos de interacción planta-hospedero se han propuesto hasta el momento, sin lograr definir cuál es el más válido. Entre los planteamientos propuestos se han definido dos tipos de interacciones, las que se realizan de forma directa, y las de contacto indirecto. Entre los modelos más importantes que describen las dos formas de interacción se encuentran el modelo Gen por Gen, propuesto por Flor (1955), para describir la dominancia y el reconocimiento de una proteína Avr y una proteína de resistencia R, más tarde argumentado teóricamente por la presencia del dominio LRR en las proteínas R, apoyadas por una interacción proteína-proteína de estos mismos.

En la tabla 2, se pueden observar algunos de los genes *R* y *Avr* que han sido aislados, clonados y caracterizados molecularmente en diferentes especies de plantas y patógenos. Según Mackey *et al.*, 2002-2003, esto ha permitido predecir la estructura, localización y posibles mecanismos mediante los cuales se lleva a cabo la interacción entre las proteínas R y Avr (ver figura N° 4).

Con base en este modelo, autores como (Dodds *et al.*, 2006; Mackey *et al.*, 2002 López 2007), lo reportan como base para plantear el Modelo Receptor Ligando, el cual se basa en la interacción específica entre un receptor y un ligando que permite activar eficientemente las respuestas de defensa en las plantas, demostrando que algunas proteínas R pueden reconocer más de un efector. Ejemplo de ello, es el reportado por (Mackey *et al.*, 2002) quien menciona como las proteínas AvrRpm1 y AvrB, pueden activar las respuestas mediadas por la misma proteína R, RPM1 de *Arabidopsis*. Sin embargo los esfuerzos para confirmar dichas asociaciones directas entre proteínas R y Avr, continúan.

Por otra parte, autores como (Axtell *et al.*, 2003, Mackey *et al.*, 2002-2003; Ingle *et al.*, 2006; López 2007), reportan el modelo de gen guardián, para apoyar el reconocimiento de proteínas R y Avr, el cual no se establece de forma directa, y esta mediado por una tercera proteína llamada blanco de patogenicidad. En este modelo la proteína R se mantiene alerta para detectar cualquier tipo de modificación en la proteína custodiada. La consolidación del modelo se realizó bajo ensayos moleculares en *Arabidopsis*, donde identificaron la proteína RIN 4

Según (López 2007), el reconocimiento directo debe estar asociado con una alta diversidad genética en los loci de los genes *R* y *Avr*, mientras que para el caso del reconocimiento indirecto la evolución ha mantenido polimorfismos balanceados en estos genes. Muy posiblemente, las historias evolutivas de cada Patosistema están influyendo en la adopción de un sistema de reconocimiento u otro. Es así como se podría pensar que la interacción constante de casi 200 años en el Patosistema Cacao (*Theobroma cacao* L)-*M. roreri*, ha originado diferentes fuerzas coevolutivas que han

moldeado la adopción de los diversos mecanismos tanto en la planta como en el patógeno. (Phillips *et al.*, 2012; López 2007), sin lograr establecer un modelo específico para la interacción Cacao-Monilia.

2.14 Señalización durante las respuestas de defensa en plantas de Cacao (*Theobroma cacao* L).

En un evento de interacción planta-patógeno, la colonización exitosa de la célula de Cacao por *M. royeri*, depende de ciertos factores, generalmente mediados por el ambiente, genotipo del hospedero y capacidad infectiva del patógeno (Agris, 2008). Sin embargo, podría desarrollar habilidades importantes para evadir los sistemas de defensa de la planta de Cacao, entre las más importantes se pueden encontrar las siguientes: 1). La capacidad de evadir el sistema de detección por parte de los receptores de membrana de la célula huésped o evitando producir y enmascarar las moléculas elicitoras de respuestas de defensa. 2). La detoxificación de moléculas o compuestos antimicrobianos producidos durante una respuesta de defensa. 3) Alta tasa de crecimiento que le confiera capacidad de alejarse rápidamente del sitio donde se está dando con mayor intensidad la respuesta de defensa.

2.15 Vías de señalización en Cacao (*Theobroma cacao* L)

Las vías de señalización se encuentran asociadas con la acumulación del ácido salicílico, el ácido jasmónico y el etileno, definidas por tres rutas principales y mediadas por genes con estructura definida. La primera intervenida por el gen *NDR1* (genes con dominio (Coiled-coil, NBS y LRR). La segunda mediada por los genes *EDS1* y *PAD4*, con dominios (TIR – NBS Y LRR), y una tercera vía sin una estructura definida pero dependientes de *EDS1* (figura 4).

Al respecto, autores como (Arguello; Negaresh, 2009), reportan como por medio de las vías de señalización se puede activar la expresión de genes *WRKY* asociados a respuestas de estrés biótico en Cacao. Resultados apoyados por (Ulker y Sommsich, 2004) quienes comentan como este tipo de activaciones codifican factores de transcripción que a su vez regulan la respuesta fisiológica en la planta de Cacao (*Theobroma cacao* L), produciendo metabolitos secundarios que provocan la hidrólisis de la pared celular del patógeno y fortaleciendo la de la planta, así como también puede

interferir en el sistema digestivo de insectos o estimulando la liberación de metabolitos secundarios (Hara, 2000)

2.16 Eventos de señalización durante la inmunidad en el patosistema Cacao (*Theobroma cacao* L)

En el patosistema Cacao (*Theobroma cacao* L), autores como (Arguello y Negaresh, 2009; Tiburcio et al., 2010; Melnick, 2013; Bailey, 2013; Meinhardt, 2014), reportan eventos de señalización activados durante las etapas de infección y pre-infección, así como en los estados biotrófos y necrotrófos, eventos de señalización necesarios para la activación de la inmunidad mediada por PTI o ETI y que pueden ser comunes o encontrarse sobrelapados en las diferentes respuestas intracelulares. Entre las más estudiadas autores como (Hammerschmidt, 2003; Colcombet y Hirt, 2008), reportan las siguientes: activación de la transcripción de genes relacionados con defensa, apertura de canales iónicos en la membrana plasmática, activación de vías MAP quinasas MAPK (Mitogen-reactive oxygen species), fortificación de paredes celulares a través de la deposición de calosa, síntesis y acumulación de fitoalexinas

Básicamente, la detección de PAMPs permite la reprogramación de la expresión génica. Como ejemplos se pueden citar los genes *FRK*, *At2g17740* y *WRKY22/29*, reportados por autores como (Asai et al 2002; Shan et al., 2008, Tiburcio, 2009), en la activación de la PTI. Otro factor importante en la inmunidad es la presencia de proteínas relacionadas con la patogenicidad, las cuales son consideradas como expresiones de los genes de resistencia. Entre las actividades más importantes de estas proteínas se han relacionado la actividad quitinasa y glucanasa. Al respecto, autores como (Slaughter et al. 2012; Sudisha et al 2012; Zhang et al. 2010b) reportan su actividad de defensa ante eventos de infección, convirtiendo a los genes que las producen en marcadores de resistencia, incluyendo el nivel de su expresión como un indicador de la amplitud de la resistencia. Un ejemplo de ellos son las proteínas PR1, PR2, PR3, PR4 y PR5, marcadores de resistencia descritas por (Loon et al., 2006).

En la figura 4, se puede observar las vías de señalización durante las respuestas de defensa en plantas. En la misma figura se puede observar las diferentes rutas metabólicas mediadas por los genes *NDR1*, *EDS1* y *PAD4*, donde López (2007) menciona lo siguiente. “Estas tres vías están asociadas con la acumulación del AS, sin embargo, también se presentan en las vías mediadas por JA y ET. La vía mediada por el gen *NDR1* (gen tipo *CNL*), la vía que depende de los genes *EDS 1* y *PAD 4* (genes de tipo *TNL*) y una tercera vía en la cual los genes *R*, no poseen una estructura definida pero dependen de *EDS1*”.

Según (Loon *et al.*, 2006), el AS, JA y Etileno, cumplen un papel muy importante dentro de la cascada de señalización que lleva a la transcripción de genes de defensa. Al respecto, (Pieterse *et al.*, 2009), describe sucesos conocidos como resistencia sistémica adquirida y resistencia sistémica inducida (SAR o SIR), haciendo referencia a la activación de grupos de genes PR presentes en eventos posteriores a la infección de un patógeno en una reacción incompatible.

En el patosistema Cacao (*Theobroma cacao* L), el papel principal de SAR aún está en estudio, sin embargo autores como (Durrant y Dong, 2004; Spoel y Dong 2012) lo reportan en la disminución de síntomas de la enfermedad, asociando las respuestas de la planta a eventos de hipersensibilidad o respuestas HR. Resultados fortalecidos por autores como (Romero *et al.*, 2004; Noutoshi *et al.*, 2012), quienes reportan estas moléculas en la utilización de programas de manejo fitosanitario como estrategias para la protección de cultivos.

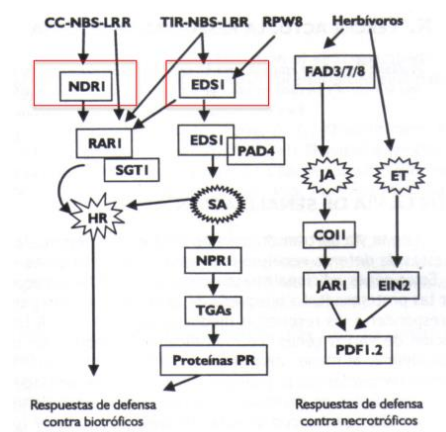


Figura N° 11. Vías de señalización durante las respuestas de defensa en plantas.

Fuente: Tomado de López, 2007

2.17 Susceptibilidad encendida por efectores en el patosistema Cacao (*Theobroma cacao* L)

En la actualidad el patosistema Cacao (*Theobroma cacao* L)-*Monilia*, se considera una interacción susceptible, seguramente por la acción de efectores de *M. roreri* (ETS), en un mecanismo utilizado para superar la inmunidad mediada por PAMPs (PTI) en las plantas de Cacao (*Theobroma cacao* L). Al respecto, autores como (Arguello y Negaresh, 2009; Tiburcio *et al.*, 2010; Melnichk, 2013; Bailey, 2013; Meinhardt, 2014), reportan la expresión de genes asociados a las fases iniciales de la infección, entre ellas la fase biotrofa de *M. roreri*, en donde necesariamente debe existir la expresión de proteínas efectoras que permitan bloquear el sistema defensivo de la planta.

La susceptibilidad de la planta se puede lograr bajo diferentes tipos de interacciones con la célula vegetal, no obstante, en algunos patosistemas se han descrito algunos de ellos, entre los más importantes autores como (Abramovitch *et al.*, 2006; Rasmussen *et al.*, 2012)., reportan el sistema de secreción tipo III (T3SS) y las proteínas efectoras de virulencia secretadas a través de él en bacterias del género *Pseudomonas* principalmente. Como ejemplo los efectores AvrPtoB de Pst DC3000 (Gohre *et al.*, 2008), los efectores AvrPto que bloquean la actividad de las MAPKs quinasas Planteamiento apoyado por (Jelenska *et al.*, 2007), quien reporta otro tipo de efectores secretados a través del sistema T3SS, los cuales pueden interferir en los cloroplastos de la célula hospedera, alterando la producción de AS y por consiguiente disminuyendo la amplitud de la respuesta de resistencia. Como ejemplo (Vidhwasekaran P. 2006), reporta el efector HopI1 de *P. syringae* pv *maculicola*. Al respecto, la actividad de efectores AvrPto en fitoreguladores como el ácido abscísico ABA, molécula que puede inducir la apertura y cierre estomático, así como su concentración en el interior de la célula podría favorecer el crecimiento y desarrollo de los fitopatógenos.

Otro factor importante que se debe tener en cuenta en el patosistema Cacao (*Theobroma cacao* L)-*Monilia*, se apoya en las relaciones filogenéticas de especies hospedadoras, es decir, entre más alejadas filogenéticamente las especies hospedadoras, el repertorio de efectores de un patógeno adaptado para una de ellas, se hace inefectivo para causar enfermedad en la otra. Esto debido a que se reduce la especificidad efector-NBS-LRR, pero aumenta la PTI. Es por esta razón que la PTI es considerada la respuesta principal de la resistencia no hospedero.

2.18 Silenciamiento génico

El silenciamiento génico es una característica que nunca se ha descrito en el patosistema Cacao (*Theobroma cacao* L)-*Monilia*; inicialmente fue reportado como un mecanismo de defensa desarrollado por las plantas para la protección a infecciones víricas. No obstante, actualmente se ha comprobado su uso para defensa contra hongos, nematodos e incluso mamíferos, también es utilizado como regulador de la expresión de genes endógenos y para el control de la invasión genómica por sus propios transposones. Al respecto, López (2007) en su revisión llamada Fitopatología Molecular define el silenciamiento génico de la siguiente forma:

“El silenciamiento génico puede ser dividido en etapas, involucrando diferentes actividades enzimáticas. El punto de entrada de PTGS es la producción de ARN de doble cadena (dsARN). Los dsARN son reconocidos por una ARNasa de tipo III llamada DICER, la cual produce ARN pequeños de 21-24 nt que poseen 2 nt salientes en el extremo 3' (siARNs). Estos siARNs se incorporan dentro de un complejo multiproteico denominado RISC (RNA-induced Silencing Complexes). Dentro del complejo RISC, una helicasa separa las dos cadenas de los siARNs, lo que permite a RISC, por apareamiento de bases, reconocer las moléculas de ARN blanco, las cuales son entonces degradadas”.

Mecanismos que a pesar de aún no ser descritos en el Patosistema Cacao-*M. roreri*, podrían impactar de forma significativa la búsqueda de nuevos procedimientos para el control de la Moniliasis del Cacao.

3. CONCLUSIONES

La complejidad de las interacciones planta patógeno sin importar su naturaleza, representan un desafío para el desarrollo de estrategias alternativas en el manejo integrado de plagas y enfermedades.

Ante la infección de un patógeno existen diferentes mecanismos de defensa en la planta, tanto preexistentes como inducidos, algunos de los cuales pueden ser funcionales en cuanto logran evitar la infección y supervivencia de un patógeno en la planta.

El conocimiento de los potenciales rangos de hospederos de especies de fitopatógenos no adaptados al patosistema Cacao-Monilia es escaso, constituyendo un reto para la fitopatología avanzar en este sentido, si bien los procesos evolutivos permiten eventos de adaptación y selección que pueden determinar los límites entre ser o no hospedero.

La caracterización de la PTI y la identificación de PRRs no se han realizado en el patosistema Cacao-Monilia. Al respecto, la reciente secuenciación del genoma de Cacao y el genoma mitocondrial de patógenos como *M. royeri*, abren una puerta hacia la búsqueda, identificación y caracterización de posibles proteínas involucradas en los eventos de reconocimiento y defensa en una interacción planta-patógeno.

La búsqueda de alternativas que contemplen implementar respuestas PTI o ETI podrían constituir una excelente estrategia para lograr generar resistencia de amplio espectro y durables. Más aún, el mecanismo PTI-ETI durante interacciones no hospedero, revela no solamente la historia evolutiva de las interacciones planta patógeno, sino que también puede ser aprovechada para identificar genes que pueden ser útiles dentro de programas de mejoramiento genético.

Los mecanismos moleculares de la inmunidad en el Patosistema Cacao-Monilia aún no han sido descritos, sin embargo, el conocimiento de las bases moleculares de las respuestas encendidas tanto por PAMPs como por EFECTORES, pueden ofrecer una posibilidad de control fitosanitario, permitiendo un uso efectivo de la PTI – ETI ,y un incremento en la resistencia de las plantas a posibles patógenos.

La poca durabilidad y alto grado de especificidad en mecanismos de resistencia mediada por características cualitativas y genes mayores de una planta, constituyen dos limitaciones relevantes al momento de una interacción planta-patógeno. En ese sentido, la PTI-ETI ofrece la posibilidad de hacer frente a estas dos condiciones. No obstante, se requiere de una mayor investigación en el campo de la inmunidad para aprovechar mejor el gran potencial de su uso en la biotecnología de plantas.

La dinámica evolutiva de las interacciones planta-patógeno, ofrecen una serie de alternativas dentro de la biotecnología de plantas, como posibles soluciones que promuevan el mejoramiento de los programas de manejo integrado de plagas y enfermedades en los cultivos de importancia económica. Su aplicabilidad

La aplicabilidad de los mecanismos de interacción planta-patógeno, constituyen un desafío a la biotecnología vegetal, orientando la fitopatología actual sobre su enfoque en los sistemas no hospederos, explotando su utilidad y profundizando en el conocimiento de las interacciones planta-patógeno. Finalmente, debido a la importancia económica y social que tiene el cultivo del Cacao en Colombia y el mundo, en el futuro cercano la investigación se enfocará en el conocimiento del patosistema Cacao-patógeno, describiendo las respuestas implicadas en las interacciones compatibles e incompatibles que hasta el momento no han sido descritas.

Los mecanismos de interacción planta-patógeno fueron descritos de forma general. No obstante, actualmente no existen relaciones de este tipo de interacciones con las que ocurren en el Patosistema Cacao-Monilia.

Es necesario investigar todos los aspectos asociados al Patosistema Cacao-Monilia, de esta forma se podrá tener un avance significativo en la búsqueda de nuevos mecanismos de control a la Moniliasis del Cacao.

4. BIBLIOGRAFÍA

Abramovitch R.; B. Anderson; G. Martin. 2006. “ Bacterial elicitation and evasion of plant innate immunity”. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 7, 601- 611. EE.UU.

Agrios G. N. Fitopatología. 8^{ta} Edición 2008. Trad. De la ed. Inglesa por Manuel Guzman Ortiz. México. Limusa,. Pp 48 – 136.

Aime y Phillips 2005. The causal agents of witches broom and frosty pod rot of cacao (chocolate, *Theobroma cacao*) form a new lineage of Marasmiaceae. *Mycologia* 97 (5): 1012-1022

Almeida A. Alan F. Raúl R. Valle. 2007. Ecophysiology of the cacao tree. *Centro de Pesquisas do Cacau, CEPLAC. Brasil.. Plant Physiol.*, 19(4):425-448.

Alverson WS, Whitlock BA, Nyffeler R, Bayer C, Baum DA. 1999. Phylogeny of the core Malvales: evidence from *ndhF* sequence data. *Am. J. Bot.* 86:1474-1486.

Ampuero, E. 1967. Monilia pod rot of Cocoa. *Cocoa Growers Bulletin* 9: 15 – 18.

Alvim, P. 1989. El cacao (*Theobroma cacao* L) en sistemas agrosilviculturales. *Revista Agrotropica*. Vol I. Mayo – Agosto.

Arguello O; Mejia L. 2000. Variabilidad morfoagronomica de 59 árboles elite de Cacao (*Theobroma cacao* L) en Santander. En: *Tecnología para el mejoramiento del Sistema de producción de Cacao*. CORPOICA. Ministerio de Agricultura. Bucaramanga. Pp 50 – 72.

Arguello I; Negaresh S. 2009. Presencia de genes WRKY asociados a la respuesta al estres biotico en Cacao de Nicaragua. *Agronomia Mesoamericana* 20(1): 41 – 46. 2009.

Asai. T; G. Tena; J. Plonikova; M.R. Willmann; W. Chiu; L. Gomez-Gomez; T. Boller; F. Ausubel; J. Sheen. 2002. "MAP kinase signaling cascade in Arabidopsis innate immunity" Nature 415: 977-983. EE.UU.

Aránzazu F. Cubillos G. 1977. Observaciones sobre control y sintomatología de *Monilia roreri* Cif y Par. En la zona de Uraba. Colombia. Cacaotero Colombiano No. 2: p24 – 25.

Aránzazu, F. Cubillos, G. 1979. Comparacion de remoción de frutos enfermos en el control de *Monilia roreri* Cif. Par Cacaotero Colombiano No. 8: 27-34.

Aránzazu F. 1987. Comportamiento de los frutos de cacao afectados por *Monilia* dejados sobre el suelo. 10ª Conferencia internacional de investigación en Cacao. Santo Domingo, Santo Domingo. República Dominicana. P 457 – 460.

Aránzazu, H. F. Palencia C.G.; Coronado, R.; Rincón, G.D. 2009. Mejoramiento genético para incrementar la producción y productividad del sistema de Caca en Colombia. Capítulo 5. p49.

Aránzazu, H. F. Rincón, G. D. Palencia, C. G. 2009. Materiales de Cacao en Colombia, su compatibilidad sexual y modelos de siembra. Unión Temporal Cacao de Colombia Uno. Fedecacao-Corpoica. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. p22

Aránzazu, H. F. 2013. Estado actual de la Moniliasis en Colombia y el Mundo. Conferencia en Seminario Internacional. Fedecacao. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. p22

Argout X, Salse J, Aury J, Guiltinan M, Droc G, Gouzy J, Allegre M, Chaparro C, Legavre T, Maximova S, Abrouk M, Murat F, Fouet O, Poulain J, Ruiz M, Roguet Y, Rodier-Goud M, Barbosa-Neto J, Sabot F, Kudrna D, Ammiraju J, Schuster S, Carlson J, Sallet E, Schiex T, Dievart A, Kramer M, Gelley L, Shi Z, Bérard A, Viot C, Boccara M, Risterucci A, Guignon V, Sabau X, Axtell M, Ma Z, Zhang Y, Brown S, Bourge M,

Golser W, Song X, Clement D, Rivallan R, Tahí M, Akaza J, Pitollat B, Gramacho K, D'Hont A, Brunel D, Infante D, Kebe I, Costet P, Wing R, McCombie W, Guiderdoni E, Quetier F, Panaud O, Wincker P, Bocs S & Lanaud C (2011). The genome of *Theobroma cacao*. *Nat. Genet.* 43(2): 101-109.

Arguello O. 2000. Manejo integrado de la Moniliasis del Cacao en Santander. Tecnología para el mejoramiento del sistema de producción de Cacao. Impresores colombianos. P74-84.

Ausbel F. 2005. “ Are innate immune signaling pathways in plants and animals conserved?. *Nature Immunology* 6, 973 – 979. EE.UU.

Benhamou N. 1996. “ Elicitor-induced plant defence pathways. *Trends in Plant Science*, 1: 233-239. EE.UU.

Bailey B.A; Crozier J; Sicher R; Strem M; Melnick R; Carazzolle F; Costa G; Pereira A; Zhang D; Maximova S; Guitinan M; Meinhardt L. 2013. Dynamic changes in pod and fungal physiology associated with the shift from biotrophy to necrotrophy during the infection of *Theobroma cacao* by *Moniliophthora roreri*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. Elsevier 81: 84 – 89.

Backman P, Wilson M. Murphy J. 1997. Bacterial for biological control of plant disease. In: Rechcigl, N.A., Rechcigl, J.E. (Eds), *Environmentally Safe Approaches to Plant Disease Control*. CRC/Lewis Press, Boca Raton, FL, pp. 95-109.

Backman P. Sikora R. 2008. Endophytes: An emerging tool for biological control. *Biological Control*. 46: 1-3

Bartley, G. (2005). *The genetic diversity of cacao and its utilization*. Cambridge: CABI

Barros O. 1981. Cacao. Manual de Asistencia Técnica No. 23. Instituto Colombiano Agropecuario, ICA. Bogotá. Colombia.

Barros J. O. 1970. "El cacao en Colombia". ICA. Manual de asistencia técnica No. 2. Bogota. D.E, Colombia.

Benezer, M; Castro E; García, E. 2008. La producción de especies reactivas de oxígeno durante la expresión de la resistencia a enfermedades en plantas. Revista Mexicana de Fitopatología. Volumen 26: Numero 1, pp 56 -61.

Benhamou N. 1996. " Elicitor-induced plant defence pathways. Trends in Plant Science, 1: 233-239. EE.UU.

Brown J, Phillips-Mora W, Power E, Krol C, Cervantes-Martinez C, Motamayor J & Schnell J. 2007. Mapping QTLs for resistance to frosty pod and black pod diseases and horticultural traits in *Theobroma cacao* L. *Crop Sci.* 47: 1851-1858.

Bogdanove A.; D. Voytas. 2001. TAL Effectors: Customizable Proteins for DNA Targeting. Science 333: (6051) 1843 – 1846. EE.UU. 2011

Boller T.; S.Y. He. 2009. "Innate immunity in plants: An arms race between pattern recognition receptors in plants and effectors in microbial pathogens" Science 324: 742-744. Suiza.

Boller T.; S.Y. He. 2009. "Innate immunity in plants; An arms race between pattern recognition receptors in plants and effectors in microbial pathogens". Science 324: 742-744. Suiza.

Caplan J.; P. Mamillapalli; T. Burch – Smith; K Czymmek; S. Dinesh-Kumar. 2008. Chloroplastic protein NRIP1 mediates innate immune receptor recognition of a viral effector. Cell. 8; 132(3): 449 – 462. EE.UU.

Campbell, N; Reece, J; Molles, M; Urry, L; Robin H. 2007. Unidad 6: Forma y funcionamiento de las plantas en Biología, séptima edición. Ed. Panamericana. Pp 810-816.

Cervantes-Martinez C, Brown J & Schnell R. 2006. Combining ability for disease resistance, yield, and horticultural traits of cacao (*Theobroma cacao* L.) clones. *J.Am. Soc. Hort. Sci.* 131(2): 231-241.

Cheesman EE. 1944. Notes on the nomenclature, classification and possible relationships of cocoa populations. *Trop Agricult* 21: 144–159.

Chisholm S.; G. Coaker; B. Day; B. Stskawicz. 2006. “Host-microbe interactions: shaping the evolution of the plant immune response”. *Cell* 124: 803 – 814. EE.UU.

Crouzillat D, Lerceteau E, Petiard V, Morera J, Rodriguez H, Walker D, Phillips W, Ronning C, Schnell R, Osei J & Fritz P (1996) *Theobroma cacao* L.: a genetic linkage map and quantitative trait loci analysis. *Theor. Appl. Genet.* 93:205-214.

Crouzillat D, Menard B, Mora A, Phillips W & Petiard V. 2000. Quantitative trait analysis in *Theobroma cacao* using molecular markers. *Euphytica* 114: 13-23.

Costa G. L; Cabrera O.G; Tiburcio R.A; Medrano F,J; Carazzolle M. F; Thomazella D.P; Schuster S.C.; Carlson J.E; Gultinan M.J; Baile M.A; Mieczkowski P; Pereira G.A; Meinhardt L.W; Couch J, Zintel H & Fritz P. 1993. The genome of the tropical *theobroma cacao* l. *Mol. Gen. Genet.* 237(1-2): 123-128.

Costa G. L; Cabrera. O; Tiburcio R.A; Medrano T.J; Carazzolle M.F; Thomazella D.P; Schuster S.C; Carlson J.E; Gultinan M.J; Bailey B.A; Mieczkowski P.M; Pereira G;

Cuatrecasas J. 1964. Cacao and its allies: a taxonomic revision of the genus *Theobroma*. *Contrib US Herbarium* **35**: 379–614.

Correa J; Castro M. S; Coyn J. 2014. Estado de la moniliasis del cacao causada por *Moniliophthora roreri* en Colombia. Escuela de Ciencias, Universidad EAFIT, Medellín, Colombia.

Colcombet J.; H. Hirt. 2008. "Arabidopsis MAPKs: A complex signaling network involved in multiple biological processes". *Biochemical Journal*. 413:217-226. Francia.

Dangl JL, Jones JDG. 2001. Plant pathogens and integrated defence responses to infection. *Nature* 411:826–833.

Delgado J.C., Ampuero E. Doak K. 1960. Posible evidencia de resistencia a la *Monilia roreri* Cif. Par. En algunos clones de la Estación Experimental Tropical de Pichilingue. Interamerican Cocoa Conference, 8th, Trinidad and Tobago, Proceedings. Trinidad, Government Press. Pp184-192.

Dias, S; Harakava, R; Mui, S; 2009. Identification of coffee genes expressed during systemic acquired resistance and incompatible interaction with *Hemileia vastatrix*. *Phytopathology*. 157: 625-638.

Dickinson, M. (2003). *Molecular Plant Pathology*. Bios Scientific Publishers. London.

Dodds, P. N., Lawrence, G. J., Catanzariti, A. M., The, T., Wang, C. I., Ayliffe, M. A., Kobe, B., Ellis, J. G. 2006. Direct protein interaction underlies gene for gene specificity and coevolution of the flax resistance genes and flax rust avirulence genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 103: 8888-93.

Dodds P.; J. Rathjen. 2010. Plant immunity: towards an integrated view of plant – pathogen interactions. *Nature Reviews, Genetics* 11: 539 – 548. EE.UU.

Efombagn M, Nyassé S, Sounigo O, Kolesnikova-Allen M & Eskes A. 2007 Participatory cocoa (*Theobroma cacao*) selection in Cameroon: *Phytophthora* pod rot resistant accessions identified in farmers' fields. *Crop Prot.* 26: 1467-1473.

Evans, H. C. 2002. Invasive Neotropical Pathogens of Tree Crops. Pages 83-112 in: *Tropical Mycology: Volume 2, Micromycetes*. R. Watling, J. Frankland, M. Ainsworth, S. Isaac, and C. Robinson, eds. CABI Publishing, Wallingford, UK.

FAO. 2008. Estado de la cuestión en la gestión de los recursos zoogenéticos. Sección C. p398.

Fedecacao 2012. Guía técnica del cultivo de del Cacao. Federación Nacional de Cacaoteros. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural.

Fedecacao 2013. Situación mundial y nacional del Cacao. Septiembre, Bucaramanga, Colombia.

Fedecacao 2015. Situación mundial y nacional del Cacao. Marzo, Bucaramanga, Colombia.

Flor, H.H. 1955. Host-parasite interaction in flax rust. Its genetics and other implications. *Phytopathology* 45: 680 – 685.

García, E; Lozoya, E. 2004. Genes de resistência a enfermedades en plantas. Revista Mexicana de Fitopatología. Ciudad Obregón, México. 22 (003) pp. 414-422

Gómez-Pompa A, Flores JS, Fernández MA (1990). The sacred cacao groves of the Maya. *Latin Am Antiquity* 1: 247–257.

Gonzales L.C. 1981. Efectos de las Fuentes de inóculo sobre las posibilidades de combate de la Moniliasis del Cacao. Primera jornada de investigación. San José de Costa Rica: Vicerrectoría de investigación de la Universidad de Costa Rica. pp. 28-29

Gomez-Gomez L.; T. Boller. 2000. FLS2: an LRR receptor-like kinase involved in the perception of the bacterial elicitor flagellin in Arabidopsis. *Molecular Cell* 5. 1003-1011. Suiza.

Gohre V.; T. Spallek; H. Waweker; S. Mersmann; T. Mentzel; T. Boller; M. de Torres; J. Mansfield; S. Robatzek. 2008. “ Plant Pattern-Recognition Receptor FLS2 Is Directed

for degradation by the Bacterial Ubiquitin Ligase AvrPtoB” Current Biology 18, 1824-1832. Alemania.

Gomez-Gomez L.; T. Booller. 2000. FLS2: an LRR receptor-like kinase involved in the perception of the bacterial elicitor flagellin in Arabidopsis. Molecular Cell 5. 1003-1011. Suiza.

Gotsch, N. 1997. Cocoa Biotechnology: status, constraints and future prospects. Biotechnology Advances, Vol 15, No. 2. 333-352 p.

Guest, D. 2007. Black pod: Diverse pathogens with a global impact on cocoa yield. Phytopathology 97:1650-1653.

Griffith G. Nicholson J. Nenninger A. Birch R. 2003. Witches brooms and frosty pods: two major pathogens of Cacao. New Zealand Journal of Botany 41: 423-435.

Hammond-Kosack, K., Jones, J. 2000. Responses to plant pathogens. In *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. Buchanan, Gruissem and Jones Eds. Rockville.

Hammerschmidt R. 2003. “Phytoalexin accumulation: response or defense” Physiological and Molecular Plant Pathology 62: 125 – 126. EE.UU.

Hebbbar, P. K. 2007. Cacao diseases: A global perspective from an industry point of view. Phytopathology 97:1658-1663.

Hernández, A; Heydrich M; Velázquez M; Hernández, A. 2006. Perspectivas del empleo de Rizobacterias como agentes de control biológico en cultivos de importancia económica. Revista Mexicana de Fitopatología, Vol. 24, N° 001, 42- 49 pp.

Hoopen M., Rees R., Aisa P., Stirrup T., Drauss U., 2003. Population dynamics of epiphytic mycoparasites of the genera *Clonostachys* and *Fusarium* for the biocontrol of

Black pod (*Phytophthora palmivora*) and Moniliasis (*Moniliophthora roreri*) on Cocoa (*Theobroma cacao* L). Mycological Research 107: 587-596.

Hoyos, C. L. 2012. Enfermedades de plantas: Control biológico. Universidad Nacional de Colombia. Colección. Ciencias Naturales. p4.

Huckelhoven, R. 2007. CellWall–Associated Mechanisms of Disease Resistance and Susceptibility. Annu. Rev. Phytopathol. 45:101–27

ICCO. Organización Mundial del Cacao. Boletín trimestral de estadísticas del cacao. Vol. XXXVI No. 2.

ICCO, Quarterly Bulletin of Statistics. International Cocoa Organization. Agosto, 2013.

Ingle, R. A. Carstens M., Katherine., Denby J. 2006. PAMP recognition and the plant–pathogen arms race. Wiley Periodicals. BioEssays 28:880–889.

Ingle, R. A. Carstens M., Katherine., Denby J. 2006. PAMP recognition and the plant–pathogen arms race. Wiley Periodicals. BioEssays 28:880–889.

Iwaro AD, Singh V, Barath S, Jugmohan N 2001. Germplasm evaluation at the International Cocoa Genebank. Trinidad for resistance to *Phytophthora* pod rot. In: Annual Report 2000 of the Cocoa Research Unit., University of the West Indies, Trinidad, pp.34- 40.

Jaimes Y. Aránzazu H. 2010. Manejo de las enfermedades del Cacao *Theobroma cacao* L en Colombia, con énfasis en Monilla *Moniliophthora roreri*. p25.

Jelenska J.; N. Yao; B. Vinatzer; C. Wright; J. Brodsky; J. Greenberg. 2007. “AJ-domain Virulence Effector of *Pseudomonas syringae* Remodels Host Chloroplasts and Suppresses Defenses”. Curr Biol, 17(6): 499 – 508. EE.UU

Jones J.D & Dangl J. L. 2006. The plant immune system. Nature. 16 November Vol 444j. Pp 323.

Keen N. 1990. “Gene-for-gene complementarity in plant-pathogen interactions” Annual Review of Genetics 24: 447-463. EE.UU

Krauss U; Soberanis W. 2001. Biocontrol of cocoa pod diseases with mycoparasite mixtures. Biological Control 22: 149 – 158.

Lanaud, C. 1999. Isolation y characterization of Microsatellites in *Theobroma cacao* L. PJI Mol Ecol. 8: p 2141 -2143

Lanaud, C., Motomayor, J.-C., and Sounigo, O. 2003. Pages 125-156 in: Genetic Diversity of Cultivated Tropical Crops. P. Hamon, M. Seguin, X. Perrier, and J. C. Glaszmann, eds. CIRAD, SPI, Enfield, NH.

Lanaud C, Fouet O, Clément D, Boccara M, Risterucci A, Surujdeo-Maharaj S, Legavre T & Argout X (2009) A meta-QTL analysis of disease resistance traits of *Theobroma cacao* L. *Mol. Breeding* 24: 361-374.

Liyanage LVK (1985) Rationale for intercropping. Coconut Bull. 2:31-35.

Lipka, U; Fuchs, R. Huhns, C; Petutschning, E; Lipka, V. 2010. Live and let die- Arabidopsis non host resistance to powdery mildews. European Journal of Cell Biology. Vol. 89, pp 194 – 202.

Loon L.; M. Rep; C. Pieterse. 2006. “ Significance of Inducible Defense-related Proteins in Infected Plants”. Annu. Rev. Phytopathol. 44: 135-162. Holanda.

Lorang J.; T. Kidarsa; C. Bradford; B. Gilbert; M. Curtis; S. Tzeng; C. Maier; T. Wolpert. 2008. Tricking the Guard: Exploiting Plant Defense for Disease Susceptibility. Science 338. 659 – 662. EE.UU.

Lopes M. Martins E. 2005. Principales doenças do cacaueiro no Brasil. Ilheus, CEPLAC/CEPEC/SEFIT. p 132

López C. E. 2007. Fitopatología Molecular. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de ciencias. Departamento de Biología. p39.

Mackey, D. Ben F. Holt III, Aaron Wiig, Jeffery L. Dangl. 2002. RIN4 Interacts with *Pseudomonas syringae* Type III Effector Molecules and Is Required for RPM1-Mediated Resistance in Arabidopsis, Cell, Volume 108. p 743-754.

Martínez B. D.H. 2014. Caracterización de cultivares de cacao (*Theobroma cacao* L) por su respuesta de defensa a *Moniliophthora roreri* y su polimorfismo de SSRs. Tesis de Maestría. Universidad Nacional de Colombia.

Melnick R., Zidack N., Bailey B., Maximova S, Guitilnan M, Backman P. 2008. Bacterial endophytes: *Bacillus* spp. From annual crops as potential biological control agents of black pod rot of Cacao. Biological control 46: 46-56.

Meinhardt L.W. 2012. The Mitochondrial Genome of *Moniliophthora roreri*, The Frosty Pod Rot Pathogen of Cacao. Fungal Biology 116 (551-562).

Meinhardt L.W; Lacerda Gustavo Gilson; Costa D. P.; Thomazella P. J; Teixeira P.L; Carazzolle M.F; Schuster S.C; Carlson J.E; Guitinan M.J; Mieczkowski P; Farmer A; Ramaraj A; Crozier J; Davis R.E; Shao J; Melnick R.L; Pereira G.A; Bailey A. 2014. Genome and Secretome Analysis of the Hemibiotrophic Fungal Pathogen, *Moniliophthora roreri*, Which Causes Frosty Pod Rot Disease of Cacao: Mechanisms of The Biotrophic and Necrotrophic Phases. BMC Genomics. 1471-2164/15/164

Merchán V.M. 1981. Avances de la investigación de la Moniliasis del Cacao en Colombia. El Cacaotero Colombiano 16: 26 – 41.

Monaghan J.; C. Zipfel. 2012. Plant pattern recognition receptor complexes at the plasma membrane. *Current Opinion in plant Biology* Volume 15, issue 4, August. Pages 349-357. United Kingdom.

Motamayor J. *et al.* 2002. Cacao domestication I: the origin of the cacao cultivated by the Mayas. *Nature Publishing. Heredity.*, 89: p. 380–386.

Motamayor JC, Lachenaud P, da Silva e Mota JW, Llor R, *et al.* 2008 Geographic and Genetic Population Differentiation of the Amazonian Chocolate Tree (*Theobroma cacao* L). *PLoS ONE* 3(10): e3311. doi:10.1371/journal.pone.0003311

Muñoz A.; A. Bernal; B. Szurek; C. López. 2012. Tell Me a Tale of TALEs. *Mol Biotechnol* DOI 10.1007/s12033-012-9619-3. Colombia.

Mysore K.; Ryu C. 2004. “ Nonhost resistance: How much do we know?. *TRENDS in Plant Science.* 9: 2. EE.UU.

Naundorf, G. 1954. Contribuciones al problema de la Moniliasis en Cacao. *Cacao en Colombia* 3: 35-61.

Navarro L; C. Zipfel; O. Rowland; L. Keller; S. Robatzek; T. Boller y J. Jones. 2004. The transcriptional innate immune response to flg22. Interplay and overlap with Avr gene dependent defense responses and bacterial pathogenesis. *Plant* 135: 1113 – 1128. United Kingdom.

Noutoshi Y.; M. Okazaki; T. Kida; Y. Nishina; Y. Morishita; T. Ogawa; H. Suzuki; d. Shibata; Y. Jikumaru; A. Hanada; Y. Kamya; K. Shirasuc. 2012. Novel Plant Immune priming compounds identified via High-Throughput Chemical Screening Target Salicylic Acid Glucosyltransferases in Arabidopsis. *The Plant Cell.* 1 – 10. Japan.

Nuñberger T, Lipka V. 2005. Non-host resistance in plants: new insights into an old phenomenon. *Mol Plant Pathol* 6:335–345.

Peshin R. Dhawan A. 2009. Integrated pest management: Innovation-Development process. DOI 10. 1007/978-1-4020-8992-3 15.

Porter, Bernard Weisblum, and Gellman Samuel H. (2002). Mimicry of Host-Defense Peptides by Unnatural Oligomers: Antimicrobial β -Peptides. *Journal American Chemistry Society.*, 124, 7324-7330.

Phillips (1986). Evaluación de la resistencia de cultivares de cacao (*Theobroma cacao* L.) a *Moniliophthora roreri* (Cif. Y Par.) Evans et al. Tesis M.Sc. Turrialba. Costa Rica. CATIE. p62.

Phillips-Mora, W. Rodríguez, P; Fritz. 1995. Marcadores de ADN: Teoría, aplicaciones y protocolos de trabajo con ejemplos de investigación en Cacao (*Theobroma cacao* L). Turrialba, Costa Rica. CATIE p183. Serie técnica. Informe técnico No. 252

Phillips-Mora, W. 1998. Biología molecular y marcadores moleculares en la agricultura. Memoria II Congreso Nacional de Estudiantes del Sector Agropecuario Costarricense. IICA-EARTH-CATIE. p77-87

Phillips-Mora, W. 2003. Origen, Biogeography, genetic diversity and taxonomic affinities of the Cacao (*Theobroma cacao* L) fungus *Moniliophthora roreri* (Cif.) Evans *et al.* as determined using molecular phytopathological and morpho-physiological evidence. Thesis Ph.D. Reading Uk: University of Reading. p349.

Phillips-Mora, W. 2004. La Moniliasis del Cacao: Una seria amenaza para el Cacao en México. In. Simposio Nacional sobre enfermedades tropicales. Resúmenes de ponencia. Tabasco. México.

Phillips-Mora, W; Castillo, J; Krauss U; Rodriguez, E; and Wilkinson, M.J. 2005. Evaluation of Cacao (*Theobroma cacao* L) clones against seven Colombian isolates of *Moniliophthora roreri* from four pathogen genetic groups. Plant Pathology 54 (3): p483-490.

Phillips-Mora, W; Cawich, J; Garnett, W. and Aime M.C. 2006a. First report of frosty pod caused by *Moniliophthora roreri* on Cacao in Belize. Plant Pathology 55:584.

Phillips-Mora, W; Coutiño, A.; Ortiz, C.F.; Lopez, A.P.; Hernandez, J, Aime, M.C. 2006b. First report and *Moniliophthora roreri*, causing frosty pod rot of Cacao in Mexico. Plant Pathology 55: 584.

Phillips-Mora, W.; Ortiz, C.F.; Aime, M.C. 2007. Fifty years of frosty pod rot in Central America: Chronology of its spread and impact from Panama to Mexico. Proceeding of the 15th International Cocoa Research Conference, Vol I pp 1039-1047.

Phillips-Mora, W., and Wilkinson, M. J. 2007. Frosty pod of cacao: A disease with a limited geographic range but unlimited potential for damage. Phytopathology 97:1644-1647.

Phillips-Mora, W. 2008. Jefe Programa Mejoramiento Genético de Cacao. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). Apartado 7170, Turrialba, Costa Rica. wphillip@catie.ac.cr

Phillips-Mora, W., Leal A. A., Mata A.Q., Motamayor A.JC. 2012. Catálogo de Clones de Cacao. CATIE. Manual técnico. Turrialba-Costa Rica. No. 155

Pieterse C.; A. Leon-Reyes; S. Van der Ent; S. Van Wess. 2009. "Networking by small-molecule hormones in plant immunity" Nature chemical biology, 5 (5): 308-316. Holanda.

Ploetz, R. C. 2007. Cacao diseases: Important threats to chocolate production worldwide. Phytopathology 97:1634-1639.

Quevedo I. A. 2012. Evaluación de Fungicidas Sistémicos y de contacto en el Control de la Moniliasis (*Moniliophthora roreri*) del Cacao (*Theobroma cacao* L).

Ram A. 1989. Biology, Epidemiology and control of Moniliasis (*Moniliophthora roreri*) of Cacao. Thesis PhD. London, UK: University London. P286

Ram A. Valle R. Arevalo E. 2004. A Monilia do Cacaueiro. Sau Paulo. SP. Fundacao cargil. p 36

Rasmussen M.; M. Roux; M. Petersen; J. Mundy. 2012. “MAP Kinase Cascades in Arabidopsis Innate Immunity”. Front Plant Sci, 3: 169. Dinamarca.

Risterucci A, Paulin D, Ducamp M, N’Goran J & Lanaud C. 2003. Identification of QTLs related to cocoa resistance to three species of Phytophthora. *Theor. Appl. Genet.* 108(1): 168-174.

Romero. A; D. Ritchie. 2004. Systemic acquired resistance delays race shifts to major resistance genes in bell pepper. *Phytopathology*, 94: 1376 – 1382. EE.UU. 2004.

Schultes RE. 1984. Amazonian cultigens and their northward and westward migrations in pre-Columbian times. In: Stone D (ed) *Pre-Columbian plant migration, Papers of the Peabody Museum of Archaeology and Ethnology*. Vol 76: Mass.: Harvard University Press: Cambridge. pp 69–83.

Schulze-lefert P.; Panstruga R. 2011. “A molecular evolutionary concept connecting nonhost resistance, pathogen host range, and pathogen speciation”. *Trends Plant Science*. 16: 117-125. Alemania

Shan L.; P. He; J. Li; A. Heese; S. Peck; T. Nurnberger; G. Martin; J. Sheen. 2008. “bacterial effectors target the common signaling partner BAK 1 to disrupt multiple MAMP receptor-signaling complexes and impede plant immunity”. *Cell Host Microbe* 4: 17 – 27. EE.UU.

Schnell RJ, Olano CT, Brown JS, Meerow AW, Cervantes-Martínez C (2005) Retrospective determination of the parental population of superior cacao (*Theobroma cacao* L) seedlings and association of microsatellite alleles with productivity. J Am Soc Hortic Sci 130(2):181–190.

Schultes RE. 1984. Amazonian cultigens and their northward and westward migrations in pre-Columbian times. In: Stone D (ed) *Pre-Columbian plant migration, Papers of the Peabody Museum of Archaeology and Ethnology*. Vol **76**: Mass.: Harvard University Press: Cambridge. pp 69–83.

Slaughter A.; Daniel; V. Flors; E. Luna; B. Hohn; B. Mauch-Mani. 2012. “Descendants of Primed Arabidopsis Plants Exhibit Resistance to Biotic Stress”. Plant Physiology 158 (2): 835 – 843. Suiza

Spoel S.; X. Dong. How do plants achieve immunity. Defence Without specialized immune cells. Nature Reviews, Immunology, 12: 89 – 100. Edimburgo. 2012.

Takken, F.L.; Joosten, M.H. 2000. Plant resistance genes: their structure, function and evolution. European Journal of Plant Pathology 106:699-713.

Tiburcio, R.A. Costa, L. G; Carazzolle F; Costa M.J; Schuster J.E; Carlson J.E. Guiltinan M.J; Bailey B.A; Mieczkowski P. Meinhardt L; Guimaraes P: 2009. Genes Acquired by Horizontal Transfer Are Potentially Involved in the Evolution of Phytopathogenicity in *Moniliophthora perniciosa* and *Moniliophthora roreri*, Two of the Major Pathogens of Cacao. Mol Evol. 70:85-97.

Thomma B.; T. Nurnberger; M. Joosten (2011). Of PAMPs and Effectors: The Blurred PTI-ETI Dichotomy. The Plant Cell 23: 4 -15. Holanda.

Torres de la Cruz. M. 2010. Progreso temporal y manejo integrado de la Moniliasis (*Moniliophthora roreri* (Cif y Par) Evans *et al*) del Cacao (*Theobroma cacao* L) en Tabasco- México. p 19.

USAID. 2006. El Uso del Ácido Salicílico y Fosfonatos (Fosfitos) para Activar el Sistema de Resistencia de la Planta (SAR). AgrifoodGateway Horticulture International. Departamento de Agricultura de los Estados Unidos.

Ueda H.; Y. Yamaguchi; H. Sano. 2006. “Direct interaction between the tobacco mosaic virus helicase domain and the ATP bound resistance protein, N factor, during the hypersensitive response in tobacco plants”. *Plant Mol. Biol.* 61: 31 – 45. Japon.

Van Hall C.J.J. 1914. Cocoa. Macmillan: London.

Varki, A; Cummings, R.D; Esko, J.D; Freeze, H.H; Stanley, P; Bertozzi, C.R; Hart, G.W; Etzler, M.E. 2009. Essentials of Glycobiology, 2nd edition. Cold Spring Harbor (NY).

Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., van de Lee, T., Hornes, M., Frijters, A., Pot, J., Peleman, J. y Kuiper, M. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research*, 23: 4407–1444.

Wittstock, U., Gershenzon, J. (2002). Constitutive plant toxins and their role in defense against herbivores and pathogens. *Curr Opin Plant Biol.* 5: 300 – 7.

Wood GAR, Lass RA (1985). Cocoa. Longman: London.

Zipfel C. 2009- Early molecular events in PAMP-triggered immunity. *Current Opinion in Plant Biology* 12: 414-420. United Kingdom.

Zhang, B; Xie, C and Yang, X. (2008) . A novel small antifungal peptide from *Bacillus* strain B-TL2 isolated from tobacco stems. *Peptides* 29 350–355.

Zhang D. *et al.*, 2009. Molecular characterization of an international cacao collection using microsatellite markers. *Tree Genetics & Genomes*.